

BIOLOGISCHE WIRKSAMKEIT
VON BIOSYNTHETISCHEM HUMANEM
PROINSULIN
BEI LABILEM TYP I DIABETES MELLITUS

Rudolf P. Hörmann

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554629_0008

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. med. E. Buchborn

BIOLOGISCHE WIRKSAMKEIT VON
BIOSYNTHETISCHEM HUMANEM PROINSULIN
BEI LABILEM TYP I DIABETES MELLITUS

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rudolf P. Hörmann
aus München

1 9 8 7

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Landgraf

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. med. E. Buchborn
2. Priv. Doz. Dr. M. Wicklmayr

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. M. Landgraf-Leurs

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. November 1987

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

Kapitel		Seite
1.	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	Einführung	1
1.1.1	Glucosehomöostase beim Nichtdiabetiker	1
1.1.2	Situation unter Insulinmangel	2
1.1.2.1	Symptomatik der akuten Stoffwechselentgleisung	3
1.1.2.2	Symptomatik der chronischen Stoffwechselentgleisung	4
1.1.3	Klassifikation des Diabetes mellitus	6
1.1.4	Therapie des Diabetes mellitus Typ I	8
1.2	Vorkommen von Proinsulin	11
1.2.1	Proinsulin beim Nichtdiabetiker	12
1.2.2	Proinsulin beim Typ I Diabetiker	13
1.3	Struktur und Eigenschaften des Proinsulins	14
1.4	Sekretion von Proinsulin	18
1.5	Biologische Wirkung von Proinsulin	22
1.6	Proinsulin als synthetischer Präkursor	25
1.7	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	33
2.	<u>PERSONEN, METHODIK UND MATERIAL</u>	34
2.1	Personen	34
2.2	Studiendesign	37
2.2.1	Aufbau der Studie	37
2.2.1.1	Umstellung auf die CSII - Therapie	38
2.2.1.2	Kombinationstherapie mit zwanzig Prozent BHPI	39
2.2.1.3	Kombinationstherapie mit zehn Prozent BHPI	40
2.2.1.4	Umstellung auf Insulin - Monotherapie	41
2.2.1.4.1	Postphase	41
2.2.1.4.2	Post-Postphase	41

2.2.2	"Open-loop"-System und Methodik der CSII	42
2.2.2.1	Abgrenzung zu anderen Substitutionsformen . . .	43
2.2.2.1.1	Abgrenzung zur Therapieform der CT und ICT . . .	44
2.2.2.1.2	Abgrenzung zum "closed-loop"-System	45
2.2.2.2	Prinzip und Besonderheiten der CSII-Therapie . .	47
2.2.2.3	Methodik und Praxis der CSII	48
2.2.2.4	Allgemeine Risiken unter CSII-Therapie	49
2.2.2.5	Spezifische Komplikationen und Probleme bei CSII	50
2.2.3	Rahmenbedingungen der Studie	51
2.2.3.1	Diabetes - Diät	51
2.2.3.2	Körperliche Aktivität	52
2.2.3.3	Klinische Überwachung	52
2.2.3.4	Probennahme	52
2.3	Material	54
2.3.1	Substanzen	54
2.3.1.1	Biosynthetisches Humaninsulin	54
2.3.1.2	Biosynthetisches humanes Proinsulin	54
2.3.2	Mikrocomputergesteuertes Infusionsdosiergerät .	55
2.3.2.1	Beschreibung der BETATRON TM II	56
2.3.2.1.1	Bedienungstastatur	57
2.3.2.1.2	LCD - Anzeige	57
2.3.2.1.3	Antriebssystem und Reservoir	58
2.3.2.1.4	Energieversorgungssystem	59
2.3.2.1.5	Gerätezubehör	61
2.3.2.2	Programmierung und spezielle Einrichtungen . .	63
2.3.2.2.1	Programm - Speicher	63
2.3.2.2.2	Alarmsignale	64
2.3.2.2.3	Zusatzeinrichtungen	65
2.3.2.3	Inbetriebnahme und Arbeitsweise des Dosiergeräts	65
2.3.2.3.1	Vorbereitung der CSII - Therapie	66
2.3.2.3.2	Inbetriebnahme des Mikrodosiergeräts	66
2.3.2.3.3	Anlegen des Infusionssystems	67
2.3.2.3.4	Arbeitsweise des Infusionsdosiergeräts	68

Kapitel	Seite
2.3.3	Sonstiges Material 71
2.4	Analytik 72
2.4.1	Blut - Glucose 72
2.4.2	Kalium - Bestimmung 72
2.4.3	Hormon - Bestimmungen 73
2.4.3.1	Serum - Insulin 73
2.4.3.2	Serum - "Proinsulin" 73
2.4.3.3	Glucagon - Bestimmung 74
2.4.3.4	Cortisol - Bestimmung 74
2.4.3.5	Wachstumshormon - Bestimmung 74
2.4.3.6	Prolaktin - Bestimmung 75
2.4.4	Bestimmung der Kontroll - Parameter 75
2.4.4.1	Analyse der glykosilierten Proteine 75
2.4.4.1.1	Glykosiliertes Hämoglobin A ₁ 75
2.4.4.1.2	Glykosiliertes Albumin 76
2.4.4.1.3	Glykosiliertes Gesamtprotein 76
2.4.4.2	Antikörper gegen Insulin, Proinsulin und E. coli 77
2.4.4.3	Bestimmung der Rahmen - Parameter 77
2.4.4.3.1	Analyse des Blutbilds 77
2.4.4.3.2	Parameter der Serum - Chemie 78
2.4.4.3.3	Urin - Analysen 79
2.5	Statistische Auswertung 80
2.5.1	Kriterien der Stoffwechseleinstellung 80
2.5.1.1	Berechnung der Mittleren Blutglucose 80
2.5.1.2	MAGE - Wert - Berechnung 80
2.5.2	Berechnung der Hormon - Dosen 81
2.5.3	Berechnung der mittleren Hormonwerte 82
2.5.4	Berechnung der Kalium - Werte 82
2.5.5	Berechnung der glykosilierten Proteine 82
2.5.6	Berechnung der Kontroll - Parameter 82

3.	<u>ERGEBNISSE</u>	83
3.1	Blut - Glucose	83
3.1.1	Mittlere Blutglucose	83
3.1.1.1	MBG pro Studienphase	83
3.1.1.2	Mittlere Blutglucose pro Studientag	84
3.1.1.3	Tagesprofile der Mittleren Blutglucose	84
3.1.2	MAGE - Werte	87
3.1.2.1	MAGE - Werte pro Studienphase	87
3.1.2.2	MAGE - Werte pro Studientag	88
3.1.3	Hypoglykämie - Ereignisse	89
3.2	Hormon - Dosen	91
3.2.1	Insulin - Dosis	91
3.2.1.1	Dosismenge an basalem BHI	91
3.2.1.2	Dosismenge und Anzahl an BHI - Zusatzraten	91
3.2.1.3	Dosismenge an BHI-Basal- plus -Zusatzraten	92
3.2.2	Proinsulin - Dosis	93
3.2.2.1	Dosismenge an BHPI - Basal- und -Zusatzraten	93
3.2.2.2	Anzahl an BHPI-Zusatzraten und Dosismenge an BHPI-Basal- plus -Zusatzraten	93
3.2.3	Gesamtmenge an Insulin plus Proinsulin	94
3.3	Kohlenhydrate	96
3.3.1	Summe der Kohlenhydrate	96
3.3.2	Anzahl der Mahlzeiten	96
3.3.3	Hormondosis zur Kohlenhydrat - Abdeckung	97
3.4	Hormon - Bestimmungen	98
3.4.1	Serum - Insulin	98
3.4.1.1	Freies Serum - Insulin	98
3.4.1.2	Serum - Gesamtinsulin	98
3.4.2	Serum - "Proinsulin"	100
3.4.3	Glucagon	101
3.4.4	Cortisol	101
3.4.5	Wachstumshormon	101
3.4.6	Prolaktin	101
3.5	Kalium	104

Kapitel	Seite
3.6	Kontroll - Parameter 105
3.6.1	Glykosiliertes Hämoglobin A ₁ 105
3.6.2	Glykosiliertes Albumin 105
3.6.3	Glykosiliertes Gesamtprotein 105
3.6.4	Verträglichkeit von BHPI 107
3.6.5	Antikörper gegen Insulin, Proinsulin und E.coli 109
3.6.6	Rahmen - Parameter 110
3.6.6.1	Blutbild 110
3.6.6.2	Parameter der Serum - Chemie 110
3.6.6.3	Urin - Analysen 112
3.6.6.4	Elektrokardiogramm 113
3.6.6.5	Klinische Parameter 113
4.	<u>DISKUSSION</u> 114
4.1	Proinsulin in der Zirkulation 114
4.2	"Insulin - like" - Effekt 115
4.3	Hepatischer Effekt 115
4.4	Hypoglykämischer Effekt 116
4.5	Substanzeiger Effekt und additive Wirkung . . . 117
4.6	Wirkort von Proinsulin 117
4.7	Konversion von Proinsulin 118
4.8	Halbwertszeit von Proinsulin 118
4.9	Clearence von Proinsulin 119
4.10	Hypoglykämische Symptomatik 119
4.11	Gegenregulatorische Hormone 120
4.12	Verträglichkeit und Immunogenität von BHPI . . . 121
4.13	Wirksamkeit unter CSI - Applikation 122
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u> 123
6.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u> 124
7.	<u>ANHANG</u> 149



Verzeichnis der Abbildungen:

Abb.:	Seite
1. Auftreten von Spätkomplikationen	5
2. Blutzuckertagesprofil eines labilen und stabilen Diabetikers	9
3. Proinsulin, Insulin und C-Peptid im Serum einer Normalperson vor und nach oraler Gabe von Glucose	13
4. Primärstruktur des humanen Proinsulinmoleküls	14
5. Tertiärstruktur des humanen Proinsulins	15
6. Aminosäuresequenz von Humaninsulin und Unterschiede zu Rinder- und Schweine-Insulin	16
7. Variationen der Aminosäuresequenz des C-Peptids von vier Spezies	17
8. Proteinsynthese von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in der Beta-Zelle des Pankreas	19
9. Schematische Darstellung des hypothetischen in vivo Konversionsprozesses von Proinsulin zu Insulin	20
10. Vereinfachte Darstellung der Konversion von Rinder-Proinsulin zu Insulin und C-Peptid	21
11. Biologische und immunologische Aktivität von hypothetischen biosynthetischen Insulin-Präkursor-Formen beim Menschen	23
12. Neukombination von biosynthetischem Humaninsulin	26
13. Schema der Biosynthese von humanem Proinsulin durch Gentechnologie	28
14. HPLC - Analyse von humanem Proinsulin-S-Sulfonat	30
15. Elutionsprofile von gereinigtem humanem Proinsulin	31
16. Infusionsdosiergeräte, die in der Studie verwendet wurden	39
17. 24-Stundenprofil von Plasmainsulin und Blutglucose bei einer normalgewichtigen Versuchsperson	42
18. Künstliches endokrines Pankreas "closed-loop"-System	45
19. Infusionsdosiergerät CPI/LILLY BETATRON TM II	55
20. Bedienungstastatur der BETATRON TM II	57
21. LCD - Anzeige der BETATRON TM II	58

22.	Antriebssystem der BETATRON TM II	58
23.	Hormonreservoir des Infusionsdosiergeräts	59
24.	Energieversorgungssystem der BETATRON TM II	60
25.	Sicherheitsbatterie der BETATRON TM II	60
26.	Ladegerät für den NiCad-Akku der BETATRON TM II	61
27.	CPI/LILLY s.c. Infusionssystem	62
28.	CPI/LILLY Sicherheitsbesteckklemme	62
29.	Typische Trageweise der Mikrodosiergeräte in den Testphasen der Studie	68
30.	Infusionsdosiergeräte vor der Bolusabgabe während der Test-Phasen der Studie	70
31.	Mittlere Blutglucose in den vier verschiedenen Phasen	83
32.	Mittlere Blutglucose der untersuchten Diabetiker pro Tag in den Studienphasen	84
33.	Tagesprofile der Mittleren Blutglucosespiegel in den einzelnen Phasen	85
34.	Mittlere Blutglucosespiegel der Typ I Diabetiker während der vier Phasen unter CSI	86
35.	Mittlere Amplitude der Glukoseschwankung pro Phase	87
36.	Mittlere Amplitude der Glukoseschwankung pro Tag	88
37.	Mittlere Gesamtmenge an applizierter Hormondosis an biosynthetischem Humaninsulin in der Prä- und Post- Phase bzw. Insulin plus Proinsulin in den Testphasen	95
38a.	Freies (IRI F) der zehn Patienten mit IDDM in den Testphasen	99
38b.	Serum-Gesamtinsulin (IRI T) der zehn Patienten mit IDDM in den Testphasen	99
39.	Serum-"Proinsulinspiegel" in den Testphasen unter CSI-Kombinationstherapie	100
40a.	Mittlere Glucagonspiegel der zehn Diabetiker	102
40b.	Mittlere Cortisolspiegel der untersuchten Diabetiker in den Testphasen	102

Abb.:

Seite

41a. Mittlere Serumspiegel des humanem Wachstumshormons der Patienten mit IDDM in den Testphasen	103
41b. Mittlere Prolaktinspiegel der untersuchten Diabetiker in den Testphasen	103
42. Mittlere Kaliumspiegel in den Testphasen	104
43a. Mittleres glykosiliertes Hämoglobin A ₁ der zehn Patienten zu den einzelnen Kontrollzeitpunkten	106
43b. Mittleres glykosiliertes Albumin der Diabetiker zu den Kontrollzeitpunkten	106
43c. Mittleres glykosiliertes Gesamtprotein der Diabetiker während der Studie	106

Verzeichnis der Tabellen:

Tab.:	Seite
1. Klassifikation des Diabetes mellitus	7
2. Klinische Charakteristika des labilen ("Brittle") Diabetes mellitus	8
3. Aminosäuren-Vergleichs-Analyse von BHPI und Rinder-Proinsulin	30
4. Klinische Daten der untersuchten Typ I Diabetiker (1)	35
5. Klinische Daten der untersuchten Typ I Diabetiker (2)	36
6. Studiendesign	37
7. Evolution der Insulin-Applikation	43
8. "Open-loop"-Infusionssysteme	46
9. Laborparameter während der Studie	53
10. Technische Daten der BETATRON™ II	56
11. Funktionsspeicher der CPI/LILLY BETATRON™ II	63
12. Alarmfunktionen der BETATRON™ II	64
13. Zusatzfunktionen der BETATRON™ II	65
14. Labor-Parameter der Serumchemie	78
15. Mittlere Blutglucose in den vier Studienphasen	84
16. MAGE - Werte in allen vier Phasen	87
17. Hypoglykämie - Ereignisse in den einzelnen Phasen	89
18. Hypoglykämie - Ereignisse der untersuchten labilen Typ I Diabetiker pro Studientag	90
19. Dosismenge an basalem biosynthetischem Humaninsulin	91
20. Dosismenge der BHI-Zusatzraten in den vier Phasen	91
21. Mittlere Anzahl der BHI-Zusatzraten in den Phasen	92
22. Gesamtmenge der BHI-Basal- und Zusatzraten in den vier Studienphasen	92
23. Dosismenge der Basal- und Zusatzraten an biosynthetischem humanem Proinsulin in den Testphasen	93
24. Anzahl der BHPI Zusatzraten und Dosismenge der BHPI-Basal- und Zusatzraten	94
25. Gesamtmenge an infundiertem BHI bzw. BHI plus BHPI in den vier Phasen der Studienperiode	94

26.	Mittlere Summe der Kohlenhydrate in den Studienphasen	96
27.	Anzahl der Mahlzeiten in den jeweiligen Phasen	96
28.	Dosismenge an infundiertem BHI bzw. BHI plus BHPI pro zwölf Gramm Kohlenhydrate	97
29.	Anzahl der Reaktionen auf die subkutane Applikation von BHPI in den Testphasen und BHI während der ge- samten Studienperiode	107
30.	Reaktionen auf die subkutane Applikation von BHPI in den Testphasen und BHI während der gesamten Studienperiode pro Patient	108
31.	Hämatologie-Parameter der Typ I Diabetiker während der Studie unter BHI bzw. BHI plus BHPI	110
32.	Nüchtern-Labor-Parameter der zehn Patienten mit IDDM während der Studie unter BHI bzw. BHI plus BHPI	111
33.	Befunde der Urin-Analysen der Diabetiker während der Studie unter BHI bzw. BHI plus BHPI	112
34.	Mittlere tägliche Blutglucosewerte pro Patient in den vier Studienphasen	149
35.	Mittlere tägliche MAGE - Werte pro Patient in den vier Phasen der Studie	150
36.	Tägliche Dosismenge an s.c. applizierten BHI-Basal- raten pro Patient in den jeweiligen Studienphasen	151
37.	Tägliche Dosismenge an s.c. infundierten BHI-Zusatz- raten pro Patient in den vier Studienphasen	152
38.	Anzahl an täglichen s.c. verabfolgten Zusatzraten an biosynthetischem Humaninsulin pro Patient und Phase	153
39.	Tägliche Dosismenge an s.c. infundierten BHI-Basal- und Zusatzraten pro Patient und Phase	154
40a.	Tägliche Dosismenge an s.c. applizierten BHPI-Basal- raten pro Patient in den Testphasen	155
40b.	Tägliche Dosismenge an s.c. applizierten BHPI-Zusatz- raten pro Patient in den Testphasen	155

Tab.:	Seite
41a. Anzahl an täglich subkutan gegebenen BHPI-Zusatz- raten pro Patient in den Testphasen	156
41b. Gesamtdosis an täglich s.c. applizierten BHPI- Zusatzraten pro Patient in den Testphasen	156
42. Tägliche Gesamtdosis an s.c. appliziertem BHI bzw. BHI plus BHPI pro Patient in den Studienphasen	157
43. Tägliche Gesamtmenge an Kohlenhydraten pro Patient in den vier Phasen der Studie	158
44. Mittlere Anzahl der täglichen Mahlzeiten pro Patient in den jeweiligen Studienphasen	159
45. Mittlere Gesamtmenge an applizierter Hormondosis an biosynthetischem Humaninsulin bzw. Humaninsulin plus Human-Proinsulin pro 12 Gramm Kohlenhydrate in den einzelnen Phasen der Studie	160
46. Nüchtern-Laborparameter der Typ I Diabetiker vor Beginn und während der Studie, sowie zu den ambu- lanten Kontrollzeitpunkten ein und drei Monate nach Abschluß der stationären Studie	161

Verzeichnis der Abkürzungen:

Abb.:	Abbildung
ABR:	Alternative Basalrate
AK:	Antikörper
Akku:	Akkumulator
AS:	Aminosäuren
AUC:	Flächenintegral (area under the curve)
AZ:	Anzahl
BE:	Broteinheit
BG:	Blut - Glucose
BHl:	Biosynthetisches Humaninsulin
BHPI:	Biosynthetisches Human-Proinsulin
BR:	Basalrate
CI:	Kontinuierliche Infusion
C-Pep.:	C-Peptid (connecting - peptide)
CSI:	Kontinuierliche subkutane Infusion
CSII	Kontinuierliche subkutane Insulininfusion
CT:	Konventionelle Injektions-Therapie
DNA:	Desoxyribonucleinsäure
E. coli:	Escherichia coli
EDV:	Elektronische Datenverarbeitung
GSA:	Glykosiliertes Albumin
GSP:	Glykosiliertes Gesamtprotein
Hb:	Hämoglobin
HbA ₁ :	Glykosiliertes Hämoglobin A ₁
HF:	Herzfrequenz
HGH:	Wachstumshormon (human growth hormone)
HPLC:	Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie
HWZ:	Halbwertszeit
ICT:	Intensivierte konventionelle Therapie
IDDM:	Insulin-abhängiger Diabetes mellitus
I.E.	Internationale Einheiten
IRI:	immunoreactive insulin
i.v.:	intravenös
Kcal.:	Kilokalorien

Verzeichnis der Abkürzungen:

KH:	Kohlenhydrate
LCD:	Flüssigkristallanzeige
MAGE:	Mittlere Amplitude der Glucoseschwankung
MBG:	Mittlere Blutglucose
MD:	Mahlzeitdosis
mg/dl:	Milligramm pro Deziliter
m-RNA:	messenger - Ribonucleinsäure
mval/l:	Millival pro Liter
MW:	Mittelwert
MZ:	Mahlzeit
n:	Anzahl
NBG:	Nüchternblutglucose
ng:	Nanogramm
NiCad:	Nickel-Cadmium-Akkumulator
NIDDM:	Insulin-unabhängiger Diabetes mellitus
p.o.:	per os
pp:	postprandial
PAT.:	Patient
PLM:	Proinsulin-like-material
PRL:	Prolaktin
RIA:	radioaktiv-immuno-assay
RNA:	Ribonucleinsäure
s.c.:	subkutan
SD:	standarddeviation
SEM:	standard error of the mean
Tab.:	Tabelle
U/l:	Einheiten pro Liter
WHO:	Weltgesundheitsorganisation
ZR:	Zusatzrate

1. EINLEITUNG

1.1 Einführung

Eine erste umfassende Beschreibung des Krankheitsbildes "Diabetes" wurde bereits im ersten Jahrhundert nach Christus von dem griechischen Arzt Aretaios von Kappadokien gegeben (130, 62, 88).

1.1.1 Glucosehomöostase beim Nichtdiabetiker

Die Blutzuckerregulation erfolgt beim Nichtdiabetiker in einem engen physiologischen Bereich von stets über fünfzig, jedoch nicht höher als einhundertundachtzig Milligramm pro Deziliter (10, 125). Die Konstanz wird durch die wechselnde Kohlenhydrataufnahme mit der Nahrung und die variable Oxidationsrate der Glucose, die z.B. bei körperlicher Arbeit um ein Vielfaches ansteigen kann, ständig bedroht. Die Sekretionsrate der Inselzellen des Pankreas kann auf diese wechselnden Bedürfnisse sehr genau eingestellt werden (134). Bereits während der Nahrungsaufnahme kommt es über gastrointestinale Peptidhormone und vagale Stimuli zu einer vermehrten Insulinsekretion aus den Beta-Zellen des Pankreas. Insulin hemmt die Sekretion des Glucagons aus den A-Zellen des Pankreas und die hepatische Produktion der Glucose (10, 125). Weiterhin fördert Insulin die Glucoseutilisation in den insulinsensitiven Organen, in der Leber die Glucoseverwertung und in der Muskulatur und im Fettgewebe die Glucoseaufnahme. Nur in Gegenwart von Insulin können diese Gewebe ausreichende Mengen an Glukose aufnehmen.

Die Insulin-medierte Aufnahme der Glucose in die Muskelzellen erfolgt zur Speicherung und Bereitstellung von Energie in Form von Glykogen. Durch die Stimulierung der Proteinsynthese und die Hemmung der Proteolyse wirkt Insulin eiweißanabol. Im Fettgewebe fördert Insulin die Lipogenese. Bei Glucoseüberschuß kommt es zu einer Speicherung, wie es manchmal scheint in fast unbegrenzter Menge in Triglyceriddepots. Für diese zuvor beschriebenen Vorgänge ist die Anwesenheit von Insulin zwingend notwendig (134, 10).

Im intakten Organismus sind die Wirkungen des Proteohormons Insulin am ehesten mit den beiden Begriffen "anabol" und "antikatabol" zu umschreiben (88).

Es gibt jedoch andere Organsysteme, in denen die Aufnahme von Glucose insulinunabhängig abläuft. Dies sind im folgenden hauptsächlich das Zentralnervensystem (ZNS), periphere Nerven, Erythrozyten, Blutgefäße, das Bindegewebe und die Nieren. In diesen Körpergeweben ist der Einstrom von Glucose direkt von der Höhe der Glucosespiegel in der Blutzirkulation abhängig. Bei zu hohen Blutzuckerspiegeln erfolgt eine Ablagerung von Glucose in den Zellen dieser Organe, d. h. sie werden glykosiliert (10).

1.1.2 Situation unter Insulinmangel

Ein völliger oder partieller Ausfall der Insulinproduktion bzw. Insulinsekretion der Beta-Zellen im Pankreas ist das entscheidende Moment in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ I und Typ II. Jedoch sind die den Untergang der Betazellen auslösenden Faktoren nicht identisch. Im Gegensatz zum Typ I (insulinabhängiger Diabetes) kommt beim Typ II Diabetes (insulinunabhängiger Diabetes) außerdem zumeist eine verminderte Ansprechbarkeit der Zielorgane auf Insulin, d. h. eine Insulinresistenz, hinzu (97).

Die Plasmainsulinkonzentration liegt bei Nichtdiabetikern im Nüchternzustand unter zwanzig Mikroeinheiten pro Milliliter und steigt nach kohlenhydrathaltigen Mahlzeiten bis auf Werte von etwa sechzig bis einhundert Mikroeinheiten pro Milliliter an (125). Bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ I kommt es meist zu einem vollständigen Versiegen der endogenen Insulinproduktion.

1.1.2.1 Symptomatik der akuten Stoffwechselentgleisung

Durch den relativen oder absoluten Mangel des Peptidhormons Insulin kommt es zu einer Stoffwechselentgleisung, die auf verschiedenen Ursachen beruht (10). Es entsteht eine ausgeprägte Hyperglukagonämie. Der Glucose-Output aus den Leberzellen wird enthemmt und der Blutglucosespiegel steigt an. Die Glucoseutilisation ist gestört, es erfolgt die Aufnahme nur geringer Mengen in Leber, Muskel- und Fettgewebe. Durch den Insulinmangel überwiegt die Proteolyse. Die Aminosäuren werden der hepatischen Glukoneogenese zugeführt. Auf die Dauer resultiert zunehmend eine allgemeine körperliche Abgeschlagenheit, Muskelschwund und Gewichtsverlust.

Als Folge des fehlenden Insulins erfolgt im Fettgewebe eine verstärkte Lipolyse. Freie Fettsäuren beginnen den Organismus zu überschwemmen. Durch das hohe Fettsäureangebot wird in der Leber die Kapazität der Fettoxidation überschritten, so daß es zu einer zunehmenden Ketogenese mit der Bildung von Acetoacetat, Beta-Hydroxybuttersäure und Aceton kommt. Nur ein kleiner Teil der Ketokörper kann im Muskel zur Energiedeckung verwendet werden, so daß eine Überschreitung der Pufferkapazität der Nieren die Folge ist. Das Säure-Basen-Gleichgewicht dekompenziert und es entsteht das Bild einer metabolischen Azidose mit einer Hyperventilationssymptomatik.

Als Folge entstehen Müdigkeit, Übelkeit und Erbrechen bis hin zum Koma diabeticum. Gleichzeitig resultiert durch die Überschreitung der Nierenschwelle eine vermehrte Ausscheidung von Glucose mit Elektrolyt- und Wasserverlust (134, 10).

Ist kein Insulin vorhanden, wie es unter absolutem Insulinmangel beim Typ I Diabetiker der Fall ist, erfolgt eine zunehmende Hyperglykämie mit allen klinischen Zeichen, eine Dehydratation, eine Glykosilierung der insulinunabhängigen Organsysteme und eine fortschreitende Eintrübung.

1.1.2.2 Symptomatik der chronischen Stoffwechselentgleisung

Neben der akuten Stoffwechselentgleisung wird das Schicksal des Diabetikers in erster Linie durch die Komplikationen am Gefäßsystem bestimmt. Etwa siebenundsiebzig Prozent aller Todesfälle beim Diabetes mellitus sind durch kardiovaskuläre Erkrankungen bedingt (97).

Zwei Gruppen von Gefäßveränderungen werden bei Diabetikern unterschieden: Die diabetische Makroangiopathie und die diabetische Mikroangiopathie. In die erste Gruppe werden alle Formen von Arteriosklerose einbezogen, die bei Patienten mit Diabetes mellitus früher, schneller und in bedeutenderem Ausmaß auftreten. Zur diabetischen Mikroangiopathie werden die spezifischen Veränderungen der Blutkapillaren gezählt, die nur bei diabetischen Patienten beobachtet werden.

Die Veränderungen an den Gefäßen bei diabetischer Makroangiopathie unterscheiden sich von den üblichen arteriosklerotischen Veränderungen hauptsächlich in ihrem Schweregrad. Die Microangiopathia diabetica weist hingegen das typische morphologische Bild einer auffallenden Verdickung der kapillären Basalmembranen auf. Das Auftreten dieser typischen Veränderungen in vielen Körpergeweben hat vorwiegend an den Augen, Nerven und in den Nieren schwerwiegende Störungen zur Folge. Als Ursache für die Basalmembranverdickungen sind vermutlich Störungen der Biosynthese verantwortlich, welche die chemische Struktur verändern und somit die Beeinträchtigung deren Funktion herbeiführen (97, 88).

Heute sind sich die meisten Diabetologen darüber einig, daß die Entwicklung der diabetischen Gefäßveränderungen von der Zeitdauer und dem Schweregrad der diabetischen Stoffwechselstörung abhängt (22, 97), (Abb.:1).

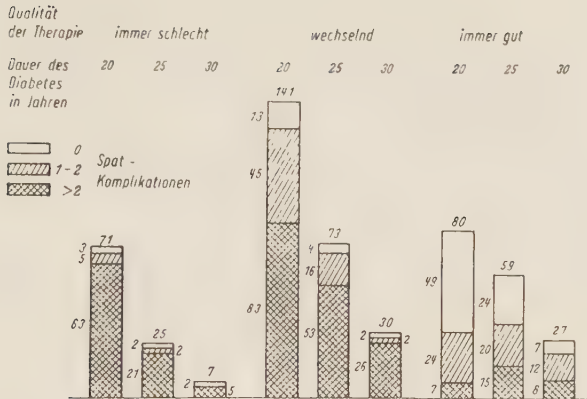


Abb.:1 Auftreten von Spätkomplikationen in Abhängigkeit von der Einstellung und Diabetesdauer. Die Zahlen neben den Säulen geben die Anzahl der Patienten wieder (nach Constam (23)).

Nach Joslin et al. können Patienten mit Diabetes mellitus mit exakter Stoffwechselführung selbst nach einer Krankheitsdauer von mehr als fünfundzwanzig Jahren frei von Spätkomplikationen bleiben (62).

Es ergibt sich daraus die Ableitung der lebensnotwendigen möglichst optimal durchgeführten Therapie durch lebenslange Substitution des endogen fehlenden Hormons Insulin und vielleicht zukünftig die Gabe noch anderer Proteohormone.

1.1.3 Klassifikation des Diabetes mellitus

Ein manifester Diabetes mellitus liegt nach den Empfehlungen der WHO von 1980 vor, wenn mehrfach folgende Blutglucose-spiegel gemessen wurden:

1. nüchtern: NBG über 120 mg/dl im Kapillarblut oder venösem Vollblut;
2. 2 Stunden pp nach 75 g Glucose p.o.:
BG über 200 mg/dl im Kapillarblut oder venösem Plasma, über 180 mg/dl im venösen Vollblut.

Eine einmalige Glucosebestimmung ist unzureichend, wenn nicht zusätzliche Anzeichen eines dekompensierten Diabetes wie Glucosurie, Ketonurie und typische Symptome vorliegen (125). Die Zuckerkrankheit ist nach dem Ergebnis zahlreicher Suchaktionen weit häufiger, als man bislang angenommen hatte. Ein therapeutisches Eingreifen im frühen Stadium der Erkrankung bietet die Möglichkeit, deren Entwicklung zum Vollbild des Diabetes zumindest zu verzögern, wenn nicht sogar im Einzelfall zu verhindern.

Für das vielgestaltige Bild des Diabetes mellitus sind klare Richtlinien vor allem für die Charakterisierung der Frühstadien notwendig (97). Nach den Empfehlungen der European Study Group for Diabetes Epidemiology, der American Diabetes Association und der WHO (164) werden in der Klassifikation des Diabetes mellitus heute im wesentlichen unterschieden:

A. Diabetes mellitus

Typ I: Der Insulin-abhängige, zu Ketose neigende Diabetes, der mit einem mehr oder minder häufigen Vorkommen bestimmter Histokompatibilitätsantigene (HLA) auf dem sechsten Chromosom und von Inselzellantikörpern einhergeht, wird als eindeutige Untergruppe des Diabetes angesehen (Insulin-abhängiger Diabetes mellitus (IDDM), Typ I; frühere Bezeichnung: kindlicher Diabetes, Jugendlicher D. (JOD), zu Ketose neigender Diabetes und Labiler Diabetes).

Typ II: Der Nicht-Insulin-abhängige, kaum zu Ketose neigende Diabetes, der nicht mit bestimmten Krankheiten oder Syndromen verknüpft ist (Nicht-Insulin-abhängiger Diabetes mellitus (NIDDM), Typ II). Diese Untergruppe wird wiederum unterteilt, je nachdem, ob sie mit oder ohne Adipositas auftritt (Typ II b: Obese NIDDM und Typ II a: Nonobese NIDDM); frühere Bezeichnung: Erwachsenen-Diabetes, Altersdiabetes, Erwachsenen-Diabetes beim Jugendlichen (MODY, "maturity-onset diabetes in young"), stabiler Diabetes mellitus).

B. Schwangerschaftsdiabetes

C. Pathologische Glucosetoleranz

a: ohne Adipositas

b: mit Adipositas

D. Diabetes mellitus oder pathologische Glucosetoleranz

bei oder durch andere Erkrankungen der Syndrome

a: Pankreaserkrankungen

b: Erkrankungen des endokrinen Systems

c: medikamentös oder chemisch ausgelöste Störungen

d: Störungen des Insulinrezeptors

e: genetische oder chromosomale Syndrome

Entscheidend ist der Versuch der klaren Trennung des Diabetes Typ I vom Typ II auf der Basis der Insulinabhängigkeit und die Hintanstellung des Lebensalters (Tab.:1).

TYP I (IDDM)	TYP II (NIDDM)
Juveniler Diabetes kann auch im mittleren oder höheren Lebensalter auftreten	Erwachsenen-Diabetes kann bereits im Kindesalter auftreten, z.B. als MODY
insulinabhängiger Diabetes	insulinunabhängiger Diabetes

Tab.:1 Klassifikation des Diabetes mellitus nach WHO (164).

1.1.4 Therapie des Diabetes mellitus Typ I

Als entscheidender Schritt in der Therapie nach vorn gelang Banting und Best (4) im Jahr 1922 die Isolierung einer blutzuckersenkenden Substanz, dem Insulin, aus Extrakten des Pankreas. Der erste erfolgreich mit dem Hormon Insulin behandelte Patient, war der dreizehn Jahre alte Leonhard Thompson (61, 10). Es war möglich geworden, den Patienten mit IDDM in den Zustand zu versetzen, den Katsch als "Zustand bedingter Gesundheit" bezeichnet hat (64). Seither konnten Millionen junger Diabetiker, die bislang dem Tode im Diabetischen Koma geweiht waren, durch die Substitution des lebensnotwendigen Hormons Insulin gerettet werden (10).

Ogleich man bislang bei der Therapie des Diabetes mellitus Typ I durch die Zufuhr von hochgereinigten Insulinpräparationen und durch physiologischere Applikationsformen um einige Schritte weitergekommen ist, erscheint die Situation bezüglich einer normoglykämischen Einstellung noch immer unbefriedigend. Nach Joslin liegt bei den meisten Patienten mit Typ I Diabetes mellitus der Zustand in Form einer relativen Stabilität vor (61).

Insbesondere ist der labile Typ I Diabetes mellitus in seiner schweren Form als Brittle - Diabetes (155) durch eine große Instabilität der Glucose-Homöostase charakterisiert (Tab.:2).

Charakteristika des "Brittle" Diabetes mellitus
- Häufige exzessive Blutzuckerschwankungen innerhalb des Tages; - Neigung zu Ketonämie, Azidose, Koma und Hypoglykämie; - grosse Empfindlichkeit gegenüber körperlicher Arbeit; - grosse Insulinempfindlichkeit; - vorwiegend leptosomer, asthenischer Habitus mit Zeichen einer vegetativen Empfindlichkeit; - im Serum meist kein Insulin, kein C-Peptid nachweisbar.

Tab.:2 Klinische Charakteristika des labilen ("Brittle") Diabetes mellitus (88).

Auch durch strenge Kontrolle des Glucosestoffwechsels, einschließlich der Patientenselbstkontrolle durch häufige tägliche Blutzuckermessungen und eine konsequente Adaptation der Insulindosis, ist es nicht immer möglich, die großen Blutglucoseschwankungen während des Tages zu vermindern (127, 128, 129, 125), (Abb.:2).

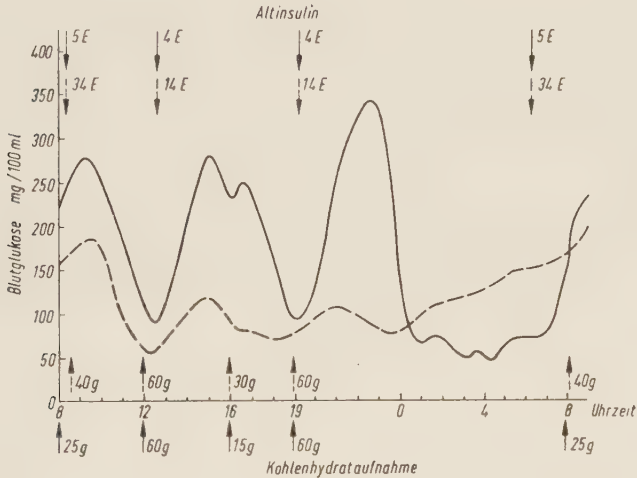


Abb.:2 Blutzuckertagesprofil eines labilen (—) und eines stabilen (---) Diabetikers, kontinuierliche Blutglucosemessung (nach Mirouze und Collard (90)).

Zur Verhütung eines hyper- oder hypoglykämischen Komas und zur Verhinderung der Komplikationen durch die diabetische Mikro- und Makroangiopathie bei ungenügender Stoffwechselstabilität des Diabetes mellitus, bleibt die zwingende Forderung nach einer Verbesserung des Glucosespiegels im Sinne einer Normoglykämie (55, 156).

Solange es daher nicht gelingt, eine Glucose-Einstellung herbeizuführen, die in einem engen stabilen physiologischen Bereich, vergleichbar einem Nichtdiabetiker, gehalten werden kann, gilt es nach weiteren Möglichkeiten der Einstellungsoptimierung zu suchen.

Es erhebt sich die Frage, ob es neben dem Hormon Insulin noch weitere Substanzen gibt, die verantwortlich sind für die in engen Grenzen gehaltene Glucosestoffwechselregulation beim Nichtdiabetiker, die beim Diabetiker fehlt und die durch die alleinige Gabe von Insulin nicht vollständig ersetzt zu werden vermag.

1.2 Vorkommen von Proinsulin

Nachdem bereits 1922 die Isolierung einer blutzuckersenkenden-Substanz, dem Insulin, aus Extrakten des Pankreas von Banting und Best geglückt war (4), dauerte es noch Jahrzehnte bis die Vorstufe des Insulins bekannt wurde.

Erst im Jahre 1967 gelang Steiner et al. die Entdeckung von Proinsulin durch die Isolation einer damals als "Big-Insulin" (Proinsulin) bezeichneten Substanz im Gewebe eines menschlichen Inselzell-Adenoms (149, 150). Bereits vor der Entdeckung von Proinsulin von Steiner et al. wurde 1965 ein "abnormales Insulin" in der Zirkulation von Elliott et al. beschrieben (28). Man nimmt an, daß es sich bei diesem entdeckten sogenannten "abnormalen Insulin" sehr wahrscheinlich um Proinsulin handelte (29).

Die reine Isolierung und die Aufklärung der Primärstruktur, also der Bestimmung der Aminosäuresequenz von Proinsulin erfolgte beim Schweine-Proinsulin 1968 von Shaw und Chance und ihren Mitarbeitern (17, 137). Im Jahr 1971 gelang Oyer et al. die Analyse der Primärstruktur des menschlichen Proinsulins (94).

1973 wurde im Plasma eines Insulinompatienten von Yalow und Berson (167) eine weitere Substanz gefunden, die sie als "Big, Big Insulin" bezeichneten. Diese Substanz wies ein Molekulargewicht von ca. 100000 auf und verhielt sich immunochemisch identisch mit Humaninsulin. Im Plasma wurde bis zu ein Prozent des gesamten Insulins dieses "Big, Big Insulins" gemessen. Vermutlich stellte dieses von Yalow und Berson beschriebene Molekül eine Vorstufe des Proinsulins, eventuell auch Aggregate von Proinsulinmolekülen dar (167).

1.2.1 Proinsulin beim Nichtdiabetiker

Proinsulin konnte beim Menschen sowohl im Serum als auch im Urin nachgewiesen werden (114, 115). Physiologischerweise findet beim Nichtdiabetiker simultan zur Insulinsekretion stets - auch im Nüchternzustand und ebenso über Nacht - eine Basalsekretion von Proinsulin statt. Wie neuere Studien bestätigen, werden auch unter Stimulationsbedingungen gleichzeitig zum Insulin geringe Mengen an Proinsulin sezerniert (6, 12).

Beim Menschen konnten nach Gordon 1971, Kitabchi 1977, Melani 1970 und nach Heding et al. 1977 zehn bis zwanzig Prozent des zirkulierenden Gesamtinsulins (immunoreactive insulin) im Serum als basales Proinsulin identifiziert werden (74, 89, 43, 51, 99), (Abb.:3). Nach Untersuchungen von Horwitz et al. 1975 wurde nach Stimulation in der Pfortader ein ähnliches Verhältnis von Proinsulin zu Insulin gemessen, wie es in den Beta-zellen des Pankreas vorkommt (56).

Die Angaben für Proinsulin in der Zirkulation bei Nichtdiabetikern schwanken in der Literatur zwischen vier bis zwanzig Prozent (150, 51). Der Proinsulinspiegel beträgt bei nüchternen Normalpersonen nach Arbeiten von Rubenstein et al., Melani et al. und Sherman et al. 0.05 bis 0.4 Nanogramm pro Milliliter im Serum, entsprechend fünf bis achtundvierzig Prozent der Insulinkonzentration (115, 116, 89, 138).

Deutlich erhöhte Proinsulinwerte wurden von Gutman et al. und Lazarus et al. bei Insulinomen und Inselzellkarzinomen angegeben (45, 83). Eine Reihe weiterer Autoren wie Sherman 1972, Schein 1973 und Kitabchi 1977, konnten dies bestätigen (131, 74, 138). Kanazawa und Hayashi berichteten im Jahr 1979 über einen Fall mit gestörter Glucosetoleranz bei familiärer Hyperproinsulinämie (63). Hier wurden Spiegel bis zu neunzig Prozent zirkulierendes Proinsulin am Gesamtinsulin gemessen.

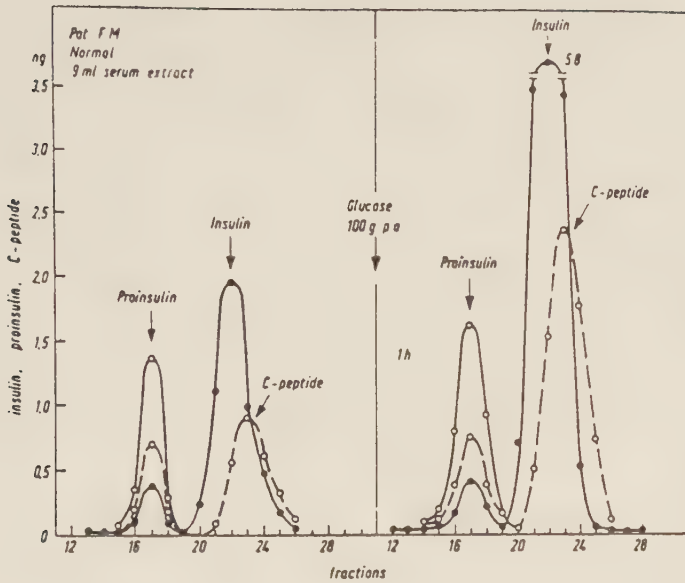


Abb.:3 Proinsulin, Insulin und C-Peptid im Serum einer Normalperson vor und nach oraler Gabe von Glucose. Absolute Mengenangaben in Nanogramm pro Milliliter (nach Melani et al. 1970 (89)).

Intravaskulär scheint keine nennenswerte Transformation von Proinsulin zu Insulin zu erfolgen, wie man auf Grund der negativen Befunde von Rubenstein und Steiner 1970 bei Proinsulininjektion an Ratten (118, 153), und von Stoll et al. 1971 an Schweinen und Affen (154) annehmen kann. Eine Konversion von Proinsulin zu Insulin in der Zirkulation oder im Zielgewebe konnte bislang nicht beobachtet werden (118, 21).

1.2.2 Proinsulin beim Typ I Diabetiker

Einige Arbeitsgruppen berichten über das Vorkommen von hohen Proinsulinspiegeln von dreißig bis fünfzig Prozent vom Gesamtinsulin bei Patienten mit Diabetes mellitus, die bislang kein exogenes Insulin erhalten hatten (42, 89). Des weiteren wurden bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus im Serum nur minimale Proinsulinspiegel gemessen oder sie verfügten über kein meßbares Proinsulin in der Zirkulation mehr (51, 9).

1.3 Struktur und Eigenschaften des Proinsulins

Proinsulin, der Präkursor des Insulinhormons stellt ein ein-kettiges Polypeptid, aufgebaut aus 84 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von ca. 9000, dar (94). Das Proinsulinmolekül besteht aus zwei Polypeptid-Ketten, dem Insulinmolekül mit einer A- und einer B-Kette, die zum einen über zwei Disulfidbrücken quer und zum andern über das sogenannte C-Peptid auch in Längsrichtung verbunden sind (94, 117), (Abb.:4). Das N-terminale Ende des Proinsulin-Moleküls wird von der B-Kette, das C-terminale Ende von der A-Kette des Insulins gebildet (17, 18). Die A- und B-Kette werden durch ein etwa 30 Aminosäuren enthaltendes Peptid, das "connecting peptide", verbunden.

Proinsulin zählt wie Insulin zu den Proteohormonen und kann daher nicht oral verabreicht werden, da es von den proteolytischen Enzymen des Gastrointestinaltrakts inaktiviert wird.

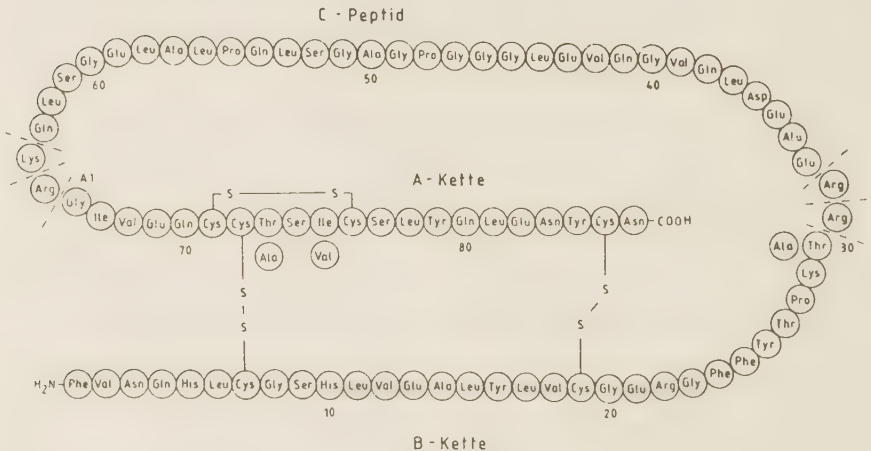


Abb.:4 Primärstruktur des humanen Proinsulinmoleküls (nach Oyer et. al. 1971 (94, 97)).

Die energetisch relativ aufwendige Ausbildung der im Insulinmolekül vorliegenden Disulfidbrücken ist beim Proinsulinmolekül umgangen durch die Ausbildung der intrachainaren Disulfidbrücken, die durch die Tertiärstruktur erleichtert wird. Die Komplexizität des Proinsulinmoleküls wird in der Darstellung der von Arquilla et al. 1976 (2, 109) modifizierten Tertiärstruktur, auch als "Wurmmodell" des Proinsulins bezeichnet, deutlich (Abb.:5).

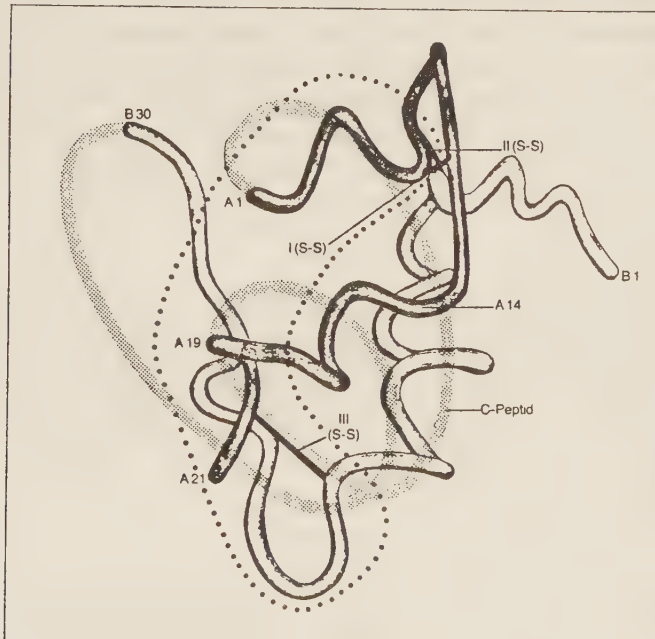


Abb.:5 Tertiärstruktur des humanen Proinsulins

Die A- (dunkler Strang von A 1 bis A 21) und B-Kette (heller Strang von B 1 bis B 30) werden durch das C-Peptid (schraffierter Strang) miteinander verbunden. Dieses liegt vor dem bioaktiven Zentrum, das durch die gepunktete Linie markiert wird. (S-S) kennzeichnet die Disulfid-Brücken, und zwar I die Verbindung zwischen A 6 und A 11, II zwischen A 7 und B 7 und III zwischen A 20 und B 19 (nach Arquilla 1976 (2, 109)).

Mit der Aufklärung der Struktur des Insulins gelang Sanger im Jahr 1953 die erste erfolgreiche Darstellung der Aminosäuresequenz eines Proteins (124). Insulin ist ein Proteohormon mit einem Molekulargewicht von etwa 6000, bestehend aus zwei parallel angeordneten über Di-Sulfid-Brücken verbundenen Polypeptidketten, einer A-Kette mit 21 Aminosäuren und einer B-Kette mit 30 Aminosäuren (Abb.:6). Eine Aufspaltung dieser S-S-Brücken durch Hydrolyse führt zum völligen Verlust der biologischen Aktivität. Die Insuline der verschiedenen Tierespezies weisen mehr oder weniger geringe Unterschiede gegenüber dem menschlichen Insulin auf. So weicht die Struktur des Rinderinsulins in drei Aminosäuren (AS), in der Position 8 Alanin statt Threonin, 10 Valin statt Isoleucin und 30 Alanin statt Threonin, die des Schweineinsulins dagegen nur in einer AS, in Position 30 ebenfalls Alanin statt Threonin, von der Struktur des humanen Insulinmoleküls ab (Abb.:6).

A - Kette

AS:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
H:	Gly	Ile	Val	Glu	Gln	Cys	Cys	Thr	Ser	Ile	Cys	Ser	Leu	Tyr	Gln

AS:	16	17	18	19	20	21
H:	Leu	Glu	Asn	Tyr	Cys	Asn

R: AS-Position 8: Ala statt Thr
 AS-Position 10: Val statt Ile

B - KETTE

AS:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
H:	Phe	Val	Asn	Gln	His	Leu	Cys	Gly	Ser	His	Leu	Val	Glu	Ala	Leu

AS:	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
H:	Tyr	Leu	Val	Cys	Gly	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Lys	Thr

R und S: AS-Position 30: Alanin statt Threonin

Abb.:6 Aminosäuresequenz von humanem Insulin und Unterschiede zu Rinder- und Schweine-Insulin (H=Human-, S=Schweine- und R=Rinder-Insulin; AS=Aminosäureposition (10)).

Das verbindende Peptid, als C-Peptid bezeichnet, wurde im Jahr 1971 von Oyer beschrieben (94) und besteht beim Menschen aus 31 Aminosäuren und besitzt ein Molekulargewicht von etwa 3000. Zwischen den verschiedenen Spezies kommen beträchtliche Variationen in der Primärstruktur des C-Peptids vor (153, 74, 170) (Abb.:7). Die Unterschiede der AS im C-Peptid der verschiedenen Spezies sind wesentlich größer als die im eigentlichen Insulinmolekül. Die Aminosäuren der Primärstruktur des C-Peptids zeigen Unterschiede bis zu fünfzig Prozent. Das C-Peptid weist somit eine hohe Speziesspezifität auf, und spielt beim animalen Proinsulinmolekül als antigene Determinante eine Rolle (153). Das Rinder- oder Schweine-Proinsulin erscheint daher auf Grund der Antigenität für eine Applikation beim Menschen nicht geeignet.

AS: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

H:	Glu-Ala-Glu-Asp-Leu-Gln-Val-Gly-Gln-Val-Glu-Leu-Gly-Gly-Gly-Pro
A:	Glu-Ala-Glu-Asp-Pro-Gln-Val-Gly-Glx-Val-Glx-Leu-Gly-Gly-Gly-Pro
S:	Glu-Ala-Glu-Asn-Pro-Gln-Ala-Gly-Ala-Val-Glu-Leu-Gly-Gly-Gly-Leu
R:	Glu-Val-Glu-Gly-Pro-Gln-Val-Gly-Ala-Leu-Glu-Leu-Ala-Gly-Gly-Pro

AS: 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

H:	Gly-Ala-Gly-Ser-Leu-Gln-Pro-Leu-Ala-Leu-Glu-Gly-Ser-Leu-Gln
A:	Gly-Ala-Gly-Ser-Leu-Gln-Pro-Leu-Ala-Leu-Glu-Gly-Ser-Leu-Gln
S:	Gly- - -Gly- - -Leu-Gln-Ala-Leu-Ala-Leu-Glu-Gly-Pro-Pro-Gln
R:	Gly-Ala-Gly- - - - - - - - -Gly-Leu-Glu-Gly-Pro-Pro-Gln

Abb.:7 Variationen der Aminosäuresequenz des C-Peptids von vier Spezies (H=Human, A=Affe, S=Schwein, R=Rind; AS=Aminosäurenposition); (nach Steiner et al. 1971 (153)).

1.4 Sekretion von Proinsulin

Im Nukleus (Zellkern) der Betazellen im Pankreas beginnt die Proteinbiosynthese des Proinsulins mit der Transkription der codierten Erbinformation auf dem Doppelstrang der Desoxyribonucleinsäure (DNA) auf eine einsträngige messenger-Ribonucleinsäure (m-RNA). Nach vollständiger Transkription löst sich die entstandene m-RNA von der DNA, verläßt den Zellkern und wandert zu den Ribosomen im Zytoplasma. Dort findet die Translation, d. h. die Übersetzung der genetischen Information in die Proteinmoleküle statt. Mit Hilfe von Transfer-Ribonucleinsäuren (t-RNA) werden freie Aminosäuren zu den Ribosomen transportiert (8, 110, 93, 92, 54).

An den Ribosomen des endoplasmatischen Reticulums (ER) in der Beta-Zelle der Langerhans'schen Inseln im Pankreas wird zunächst eine kurzlebige Vorstufe, ein einkettiges Peptid, das Prä-Proinsulin synthetisiert. Durch proteolytische Spaltung unter Abspaltung von zwanzig Aminosäuren erfolgt die Konversion zum einkettigen Proinsulin (95, 117).

Nach der Synthese des Proinsulinmoleküls in den Ribosomen des rauen endoplasmatischen Reticulums (RER), erfolgt der Transport zu den Vacuolen des Golgi-Apparates. In den neugebildeten Sekretionsgranula wird in einem Umwandlungsprozess der größte Anteil des vorliegenden Proinsulins durch trypsinähnliche Proteasen unter Abspaltung des C-Peptids (connecting-peptide) in Insulin umgewandelt (126, 43, 152, 121, 110, 97, 125, 170), (Abb.:8).

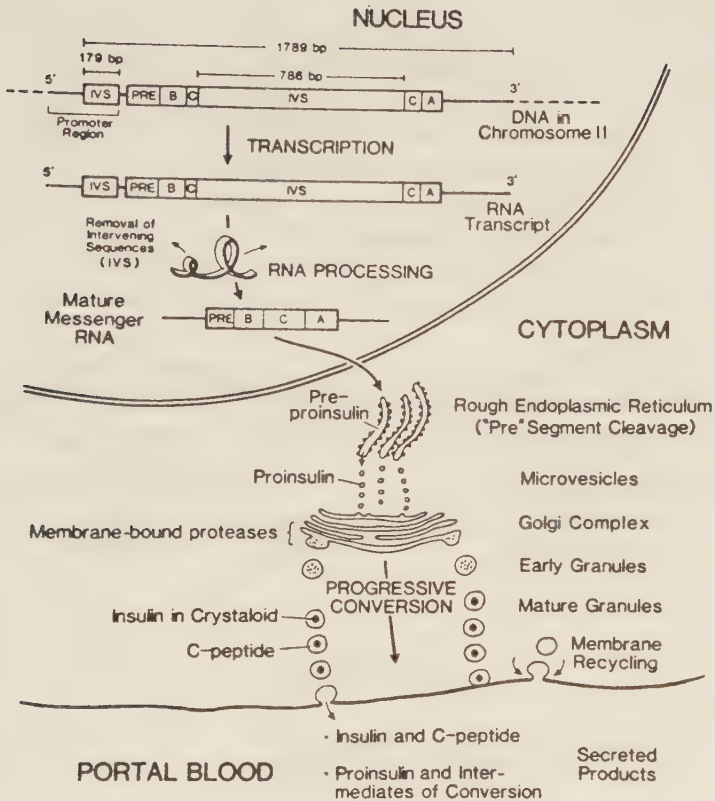


Abb.:8 Proteinsynthese von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in der Beta-Zelle des Pankreas (IVS kennzeichnet das Zwischensegment; PRE=Präpeptidsegment oder Signalpeptid; B, C und A = Peptidsegmente des Proinsulins; Bp=Basenpaare; nach Steiner und Rubenstein (110, 152, 121)).

Neben Insulin und C-Peptid entstehen zum Teil verschiedene intermediäre Formen an inkomplett gespaltenem Proinsulin, deren Unterschied zum Proinsulin in einer reduzierten Anzahl der Aminosäuren liegt (151, 110). Die zwei Hauptformen dieser vorkommenden Proinsulin-Intermediate sind insbesondere das Split -58, -59 Proinsulin zu sechzig bis siebenzig Prozent und das Split -31, -32 Proinsulin, das zu ca. dreißig bis vierzig Prozent vorkommt (66, 67, 68), (Abb.:9, Abb.10).

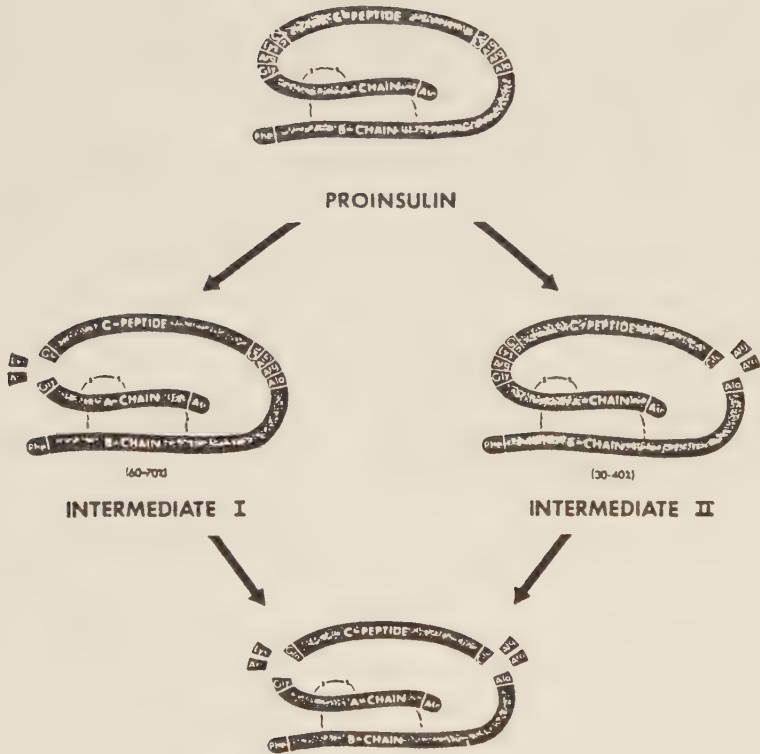


Abb.:10 Vereinfachte Darstellung der Konversion von Rinder-Proinsulin zu Insulin und C-Peptid in vivo über die bekannten Hauptformen der Intermediate des Rinder-Proinsulins (nach Chance (18, 66)).

Die Proinsulin-ähnlichen Verbindungen sind sehr heterogen. Neben den Hauptformen der Proinsulin-Intermediate kommen im Plasma noch mehrere kleinere Split-Produkte vor (46). Da sich im immunologischen Verhalten von den Spaltprodukten des Proinsulins und dem reinen Proinsulinmolekül kaum Unterschiede ergeben, erfolgt im Serum radioimmunologisch eine Mitbestimmung als Proinsulin. Aufgrund dessen erscheint eine Bezeichnung als sogenanntes PLM (Proinsulin-like-material) im Serum folgerichtiger (74).

1.5 Biologische Wirkung von Proinsulin

In biologischen Tests zeigte Proinsulin 1972 nach Kitabchi, 1979 nach Gliemann und Sörensen und 1984 nach Podlecki an isolierten Rattenfettzellen (38, 72, 101), 1968 nach Chance und Shaw sowie nach Lazarus und Mitarbeiter am Zwerchfellmuskel (137, 17, 81) und an isolierten Leberzellmembranen nach Freychet 1974 und Probst 1985 (33, 102) qualitativ dieselbe Wirkung wie Insulin, jedoch nach Kitabchi et al. 1977 quantitativ in geringerer Potenz als Insulin (74). Ebenso erwies sich Proinsulin im Vergleich zu Insulin als biologisch schwächer wirksam, und zwar an der Maus nach Chance und Mitarbeiter 1968 (17), der Ratte nach Lazarus und Mitarbeiter 1970 (81), an Schwein und Affe 1971 nach Stoll et al. (154), sowie am Menschen, wie Galloway et al. 1969 und Fineberg und Merimee 1970 zeigen konnten (35, 31).

An humanem Fettgewebe zeigte Proinsulin 1972 nach Faulhaber et al. etwa die gleiche biologische Aktivität wie eine isomolare Menge von Insulin. Rees und Madison stellten 1969 bei ihren Untersuchungen eine mit Insulin äquipotente biologische Wirkung von Proinsulin auf die Glucoseabgabe der Leber fest. Ob Proinsulin eine andersartige Wirkung an der Leber besitzt, wo die Konzentration, wie Horwitz et al. 1975 berichteten, unter Glucosestimulation höher als im peripheren Blut ist (56), oder an der Niere, an der 1973 nach Mako ca. fünfundfünfzig Prozent des zirkulierenden Proinsulins entfernt werden (85) ist bislang nicht bekannt. - Die Metabolisierung von Proinsulin erfolgt im Vergleich zu Insulin (103, 104) überwiegend renal (85, 103).

Ein durch intravenös injiziertes Schweine-Proinsulin induzierter Blutglucoseabfall zeigte im Vergleich zu Insulin nach Galloway 1969, Stoll 1971 und Kitabchi 1977 eine weniger ausgeprägte, jedoch eine zeitlich verlängerte Wirkung (35, 154, 74). In Abhängigkeit von der verwendeten Methode werden von den verschiedenen Autoren bezüglich der biologischen Aktivität von Proinsulin Werte zwischen zwei und zwanzig Prozent angegeben (150, 71).

Etwas größere biologische Aktivität im Vergleich zu intaktem Proinsulin wurde bei einigen seiner Intermediate, die teilweise im Proinsulinkonversionsprozeß entstehen, gefunden (74), (Abb.:11). Yu und Kitabchi verglichen die Aktivität von Split-Schweine- und Rinder-Des-dipeptid-Proinsulinformen und zeigten, daß intaktes Proinsulin, die "AC"- (Intermediat II) und "BC"- (Intermediat I) Konversionsintermediate zwölf Prozent, siebzehn Prozent und dreiunddreißig Prozent, in bezug auf die biologische Aktivität von Insulin auf die Glucoseumwandlung in isolierten Fettzellen aufwiesen (168). Weiterhin bestehen nach Kitabchi speziesspezifische Unterschiede im Reaktionsverhalten, sowohl von Insulin, wie auch von Proinsulin (71).

	<u>COMPOUND</u>	<u>IMMUNO- REACTIVITY</u>	<u>BIOLOGIC ACTIVITY</u>
	Proinsulin	30 %	10 %
	Desdipeptide (I)	30 %	28 %
	C - Peptide	0	0
	Dipeptide Insulin	100 %	38 %
	Insulin	100 %	100 %

Abb.:11 Biologische und immunologische Aktivitäten von hypothetischen biosynthetischen Insulin-Präkursor-Formen beim Menschen (nach Kitabchi (71)).

Die biologische Aktivität von Proinsulin sowie die 1974 von Freychet beschriebene verminderte Bindungskapazität an den Insulinrezeptoren (33) läßt vermuten, daß das C-Peptid im Proinsulinmolekül funktionell wichtige Bereiche des Insulinmoleküls abdeckt (74).

Bei vormaligen Untersuchungen zur Halbwertszeit von animalelem Proinsulin bei Patienten mit einem Inselzelladenom von Starr und Rubenstein und beim Stoffwechselgesunden von Sonksen et al. zeigte sich, daß diese mit etwa achtzehn bis zwanzig Minuten die Halbwertszeit des Insulins um etwa das dreifache überragte (118, 141, 147). Durch diese Eigenschaft wird die Höhe der Proinsulinspiegel im Plasma begünstigt. Neuere Arbeiten von Rosak und Mitarbeitern berichten über eine Halbwertszeit (HWZ) von humanem Proinsulin mit 17.2 Minuten, die somit im Gegensatz zu 4.8 Minuten beim Insulin deutlich verlängert ist (113).

Die meisten der im Radioimmunoassay für Insulin verwendeten Insulinantisera weisen eine Kreuzreaktion mit Proinsulin auf, d. h. der als immunoreaktives Insulin gemessene Wert enthält einen bestimmten Prozentsatz an Proinsulin. Nach Starr und Mitarbeitern 1978 fällt diese in Abhängigkeit vom jeweiligen Antiserum sehr unterschiedlich aus (148). Für die Kreuzreaktivität für Proinsulin werden in der Literatur Proinsulinspiegel von sieben bis zu fünfzig Prozent und mehr genannt (73, 148, 74).

Proinsulin stimuliert, soweit man bisher weiß, dieselben metabolischen Vorgänge wie Insulin ("insulin-like-effects") (74). Ob zirkulierendes Proinsulin eine Rolle im Rückkopplungssystem auf die Proinsulin-Synthese oder die Synthese und/oder die Freisetzung von Insulin oder anderen pankreatischen Hormonen eine Rolle spielt, ist Gegenstand der Forschung. Ob Proinsulin eine eigene von Insulin andersartige Wirkung besitzt, ist bislang nicht bekannt. Welche physiologische Bedeutung Proinsulin als Präkursor von Insulin in der Zirkulation zukommt, ist bis heute ungeklärt.

1.6 Proinsulin als synthetischer Präkursor

Die Proteinbiosynthese in den Zellen wird von den einzelnen Genen gesteuert, die in jeder Zelle auf den entsprechenden Chromosomen der Zellkerne lokalisiert sind. In Bakterienzellen erfolgt die Steuerung der Proteinsynthese auch durch sogenannte Plasmide. Plasmide sind zu einem Ring geschlossene DNA-Moleküle, die außerhalb der zu einer Spirale aufgerollten Erbsubstanz (DNA) der betreffenden Bakterienzelle frei im Zellplasma schwimmen. Solche Plasmide können aus Bakterienzellen isoliert werden. Mit Hilfe von spezifischen Restriktionsenzymen wird der aus Bakterien isolierte Plasmidring aufgeschnitten. Im Anschluß daran wird dasjenige Gen (DNA), das die entsprechende Information zur späteren Proteinsynthese trägt, in die Schnittstelle des Plasmidrings eingesetzt.

Das Produkt dieser Gen-Operation nennt man "rekombinierte" neukombinierte - DNA. Die rekombinierten Plasmide werden als sogenannter Vektor (Trägermolekül, das die Zellmembran der Wirtszelle passieren kann und dabei das gewünschte Gen mit einschleußt) durch die Zellmembran der Wirtszelle hindurchtransportiert. In der Wirtszelle wird die auf dem Plasmid enthaltene genetische Information abgelesen. Akzeptiert die Wirtszelle den neuen genetischen Befehl, sofern sie diesen versteht, wird die Zelle von dem eingeschleußten Plasmid zur Produktion der betreffenden Eiweißmoleküle veranlaßt (30).

Escherichia coli, ein stäbchenförmiges gramnegatives Bakterium aus der Bakterienfamilie der Enterobacteriaceae, zählt zu den heute genetisch bestuntersuchten Organismen.

Genetic Engineering hatte im Jahr 1979 mit der gentechnologischen Herstellung von biosynthetischem humanem Insulin (BHI) durch das Bakterium *E. coli* (Goeddel et al.) seine erste wichtige klinische und kommerzielle Anwendung für den therapeutischen Gebrauch (39, 110, 60).

Für die gentechnologische Voll-Synthese von biosynthetischem humanem Insulin konnten bislang zwei verschiedene Synthesewege entwickelt werden.

In einem Prozeß werden zwei getrennte Stücke von einer genetisch modifizierten Kette des human apathogenen Bakterienstammes *E. coli* K 12 entwickelt, in die ein synthetisches Gen für die A- oder die B-Kette des Insulinmoleküls inseriert wird (Abb.:12). Zunächst wird das synthetische Genmaterial direkt an die Promotor-Region (bestimmter Abschnitt auf der DNA, der dem Struktur-Gen, der eigentlichen Bauanleitung vorgeschaltet ist), für Beta-Galactosidase oder Tryptophan-Synthetase in das Bakterienplasmid (ringförmiges DNA-Molekül) inseriert. Das auf diese Weise modifizierte Bakterium wird dadurch zur Produktion eines Proteins induziert, aus dem durch Cyanogen-Bromid die humananaloge A- oder B-Kette des Insulinmoleküls synthetisiert wird. Die auf diese Weise gewonnenen freien A- und B- Ketten des Insulins werden jeweils vor der Kombination der beiden Ketten in ein Sulfonat-Derivat umgewandelt und nach mehreren Reinigungsverfahren zu Insulin neukombiniert (60), (Abb.:12).

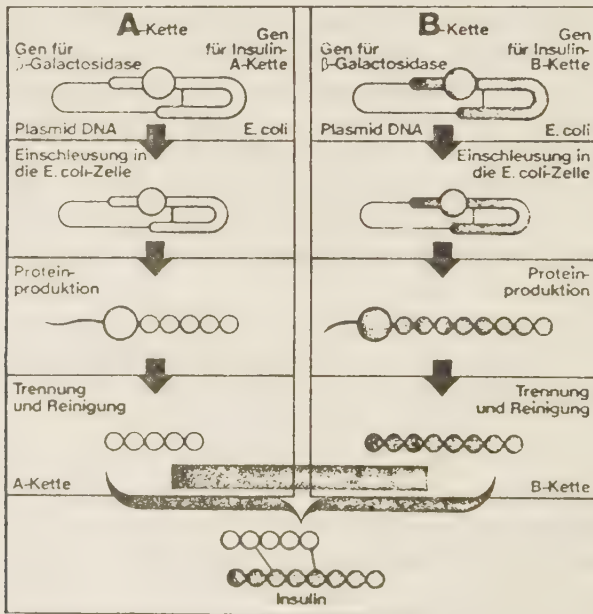


Abb.:12 Neukombination von biosynthetischem Humaninsulin (Eli LILLY, nach Kerner (69)).

Chance et al. bewiesen mittels Aminosäuren-Analysen, HPLC-Analysen (Hochdrucks-Flüssigkeits-Chromatographie) und Spektralanalysen die Identität von biosynthetischem Humaninsulin (BHI) mit extrahiertem humanem Insulin (19).

Ein gentechnologisch anderer Syntheseprozess verfolgt die Insertion eines modifizierten oder "mini" Human-Proinsulin-Gens in eine Bakterien- oder Eukaryontenzelle (163, 110) und hat den theoretischen Vorteil der Minimierung der Reinigungsprozedur bei der Produktion größerer Mengen. Es wurde ein Verfahren entwickelt, in dem das noch ungefaltete lineare Bakterienprodukt, Proinsulin S-Sulfonat in einem nichtoxidativen Prozess bei alkalischem pH zu Proinsulin transformiert wird.

Proinsulin wird durch das Einschleusen von Plasmiden mit entsprechender genetischer Information in den E. coli Bakterienstamm K 12 mit anschließender Kultivierung dieser manipulierten Bakterien synthetisiert. Das auf diese Weise hergestellte Endprodukt stellt ein noch relativ einfaches Proinsulin-Derivat dar, das nach einem Reaktionsprozess mit Zyanbromid rohes Proinsulin ergibt. In einer anschließenden oxidativen Sulfatolyse entsteht ein Proinsulinsulfonat. In einem weiteren chemischen Verfahren wird eine entsprechende Faltung des Proinsulinmoleküls mit gleichzeitiger Ausbildung von Sulfhydrylbindungen erreicht.

Mittels Gelfiltration erhält man schließlich als Endprodukt hochgereinigtes biosynthetisches humanes Proinsulin (60), (Abb.:13).

Neben der Voll-Synthese von biosynthetischem Humaninsulin (BHI) durch die Gentechnologie im Jahr 1979 ist nunmehr auch die DNA-Neukombination von biosynthetischem Human-Proinsulin (BHPI) induzierbar.

Der Syntheseweg von BHPI verläuft schematisch vereinfacht in folgenden Schritten:

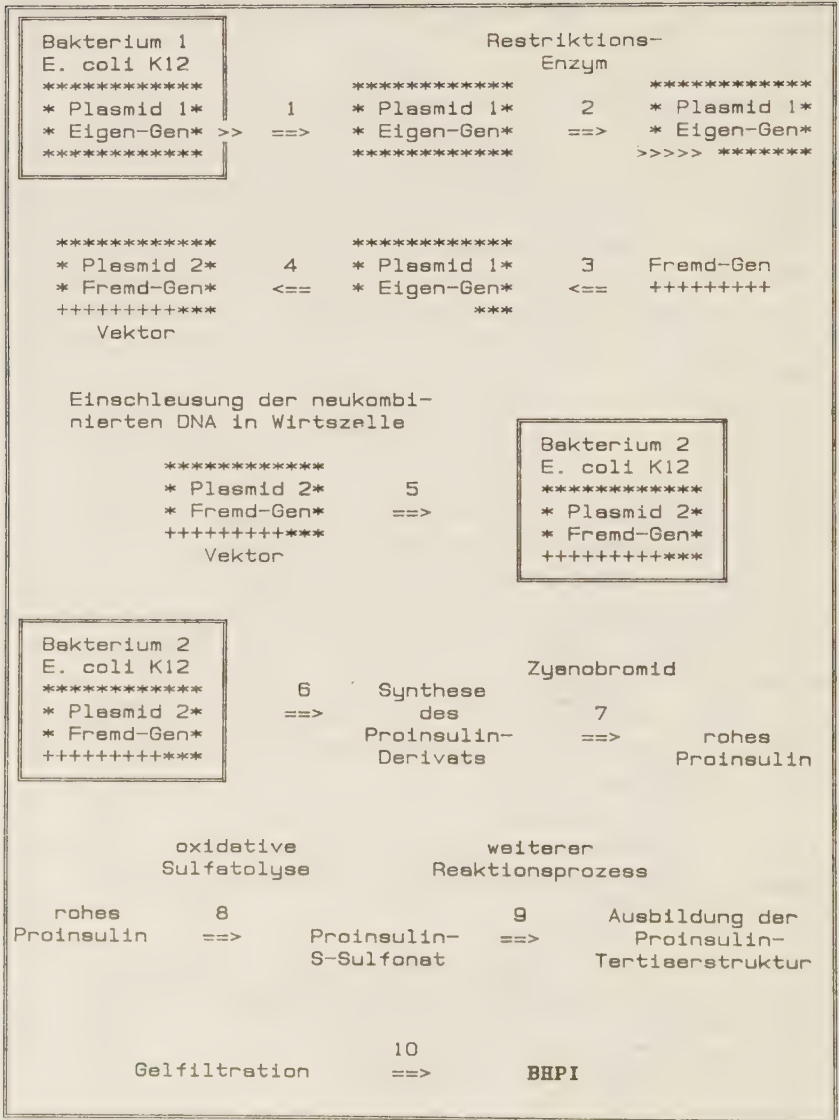


Abb.:13 Schema der Biosynthese von humanem Proinsulin (BHPI) durch Gentechnologie E.LILLY (n. Frank (32) s.Text).

Die gentechnologische Synthese von biosynthetischem humanem Proinsulin erfolgt in folgenden Schritten:

1. Identifikation und Isolation eines Bakterien-Plasmids ("Plasmid 1" = Eigenplasmid) aus dem human-apathogenen Bakterienstamm *Escherichia coli* K12 ("Bakterium 1").
2. Aufschneiden des aus der Bakterienzelle isolierten Plasmidrings mit einem speziellen Restriktionsenzym.
3. Insertion desjenigen Gens ("Fremd-Gen" mit der Information zur Synthese von Proinsulinmolekülen), das in die spätere Wirtszelle eingeschleust werden soll, in die Schnittstelle des *E. coli* Plasmidrings.
4. Das Produkt dieses Insertionsprozesses wird als Vektor, Trägermolekül ("Plasmid 2 mit Fremd-Gen") mit einer neukombinierten DNA - "rekombinant DNA" - bezeichnet.
5. Einschleusung des Vektors ("Plasmid 2 mit Fremd-Gen" = neukombinierte DNA) durch die Zellmembran einer *E. coli* Wirtszelle ("Bakterium 2").
6. Kultivierung dieses manipulierten Bakterienstammes und Proteinsynthese eines Proinsulin-Derivats.
7. Reaktionsprozeß unter Einwirkung von Zyanbromid führt zu rohem Proinsulin.
8. Durch oxidative Sulfatolyse entsteht Proinsulin-S-Sulfonat.
9. In einem weiteren chemischen Verfahren entsprechende Faltung des Proinsulinmoleküls mit gleichzeitiger Ausbildung von Sulfhydrylbindungen.
10. Mittels Gelfiltration erhält man als Endprodukt hochgereinigtes biosynthetisches humanes Proinsulin.

Wie AS-Vergleichs-Analysen, Elutionsprofile und HPLC-Analysen (Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie) zeigen, ist es mit der Gentechnologie durch die Neukombination von BHPI mit Hilfe der *E. coli*-Bakterien gelungen, identisches humanes Proinsulin herzustellen. Die Aminosäurenanalyse von BHPI zeigt eine ausgezeichnete Übereinstimmung mit der bekannten Struktur von humanem Proinsulin. (32).

Die Ergebnisse der Aminosäuren-Vergleichs-Analyse von BHPI und Rinder-Proinsulin sind nachfolgend dargestellt (Tab.:3). Das Ergebnis der Aminosäuren-Analyse entspricht den theoretischen Sollwerten.

AMINOSAEURE	RIND	HUMAN
ASP	3.00 (3)	4.07 (4)
THR	0.94 (1)	2.82 (3)
SER	2.62 (3)	4.35 (5)
GLU	13.3 (13)	15.8 (15)
PRO	5.03 (5)	2.94 (3)
GLY	12.0 (12)	11.3 (11)
ALA	6.00 (6)	4.00 (4)
CYS	5.71 (6)	5.89 (6)
VAL	6.73 (7)	5.90 (6)
ILE	0.72 (1)	1.66 (2)
LEU	9.01 (9)	12.3 (12)
TYR	3.86 (4)	3.87 (4)
PHE	2.93 (3)	2.96 (3)
HIS	1.90 (2)	1.91 (2)
LYS	1.94 (2)	1.96 (2)
ARG	3.94 (4)	3.95 (4)

Tab.:3 AS-Vergleichs-Analyse von BHPI und Rinder-Proinsulin. Jeder Wert ist ein MW von drei Messungen nach 30-stündiger Hydrolyse. Die molare Einheit bezieht sich auf Alanin; in Klammern theoretische Werte, (32).

Die HPLC-Analysen von humanem Proinsulin-S-Sulfonat sind in folgendem Diagramm als ungereinigte Mischung und gereinigt aufgezeigt (Abb.:14).

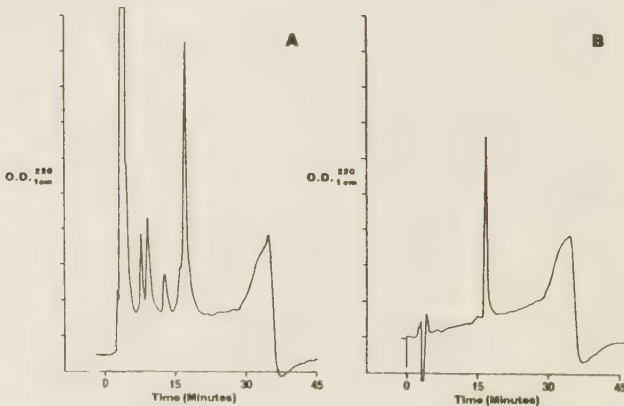


Abb.:14 HPLC - Analyse von humanem Proinsulin -S- Sulfonat
A) ungereinigte Sulfatolyse-Mischung; B) gereinigt
(nach Frank (32)).

Die chromatischen Reinigungsverfahren von biosynthetischem humanem Proinsulin ergeben in den Elutionsprofilen hochgereinigtes humanes Proinsulin (Abb.:15).

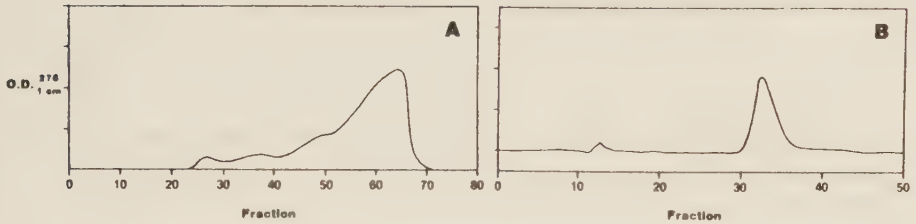


Abb.:15 Elutionsprofile von gereinigtem humanem Proinsulin nach Chromatographie) Fraktion A) Sephadex G-50SF; Fraktion B) HPLC; der Haupt-Peak in den Fraktionen zeigt biosynthetisches Human-Proinsulin (32).

Über die gentechnologische Biosynthese des humanen Proinsulins durch Neukombination steht jetzt neben dem bislang verwendeten Verfahren durch DNA-Neukombination der zunächst getrennt synthetisierten A- und B-Kette des Insulins ein zweiter direkter Weg für die Herstellung von biosynthetischem humanem Insulin zur Verfügung.

Die in vitro Konversion zu Insulin durch eine modifizierte enzymatische Technik wird erstmals im Jahr 1973 von Kemmler und seinen Mitarbeitern berichtet (67, 110). Mit einer speziellen Mischung aus Carboxypeptidase-B und Trypsin wird enzymatisch das C-Peptid und die verbindende Aminosäure unter Erhaltung des Insulinanteils des Moleküls abgespalten. Das auf diese Weise gewonnene Insulin wird anschließend einem endgültigen Reinigungsverfahren unterzogen (60). Das resultierende gentechnologisch vollbiosynthetisch hergestellte Humaninsulin (BHI) hat gezeigt, daß es gegenüber dem humanem Insulin identische physiologische Eigenschaften besitzt, und in seiner biologischen Aktivität schließlich dem hochgereinigtem Schweineinsulin äquivalent ist (110, 60).

Nach den Untersuchungen von Frank et al. zeigt das auf gentechnologischem Weg durch DNA-Neukombination mittels humanapathogenen E. coli-Bakterien synthetisierte humane Proinsulin dieselben physikochemischen und biologischen Eigenschaften wie pankreatisches Proinsulin (32).

Mit der Neukombination von reinem biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) durch die Gentechnologie ist es gleichfalls gelungen eine ausreichende Menge dieses Proteohormons herzustellen und damit weitere Untersuchungen für eine nähere Charakterisierung vornehmen zu können.

1.7 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Mit der Verfügbarkeit von hochgereinigtem biosynthetischen humanem Proinsulin (BHPI) für den klinischen Gebrauch ist die Voraussetzung gegeben, die biologische Wirksamkeit des synthetischen Präkursors von Insulin näher zu untersuchen.

Obwohl die physiologische Funktion von Proinsulin heute noch weitgehend unbekannt ist, könnte, wie in einigen Arbeiten bisher berichtet wurde, durch die Zugabe von dem nun zur Verfügung stehenden BHPI zum Insulin ein günstig beeinflussender Effekt auf die Stabilität des Glucosestoffwechsels des labilen Typ I Diabetikers erwartet werden.

Ogleich, wie Revers et al. gezeigt haben, die biologische Aktivität von Proinsulin etwa acht bis zehn Prozent der des Insulins beträgt (107), könnte Proinsulin insbesondere auf Grund der längeren Halbwertszeit eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Glucose-Homöostase spielen.

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Untersuchung der biologischen Wirksamkeit von biosynthetischem humanem Proinsulin auf den Glucosestoffwechsel. Die Fragestellung war, ob die zusätzliche kontinuierliche subkutane Applikation (CSI) von biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) in Kombination mit biosynthetischem humanem Insulin (BHI) bei Patienten mit labilem Typ I Diabetes Mellitus zum einen einen insulineinsparenden Effekt zeigt, und zum anderen, ob sie zu einer Stabilisierung des Glucose-Stoffwechsels führt.

2. PERSONEN, METHODIK UND MATERIAL

2.1. Personen

Zehn Patienten mit labilem Diabetes mellitus Typ I nahmen nach umfangreicher Aufklärung mit ihrem schriftlichem Einverständnis an der Studie teil. Das Untersuchungs-Protokoll wurde in Übereinstimmung mit den Prinzipien der Erklärung von Helsinki und der Genehmigung durch das Ethikkomitee der Universität München durchgeführt.

Das durchschnittliche Alter der zehn untersuchten Patienten mit IDDM lag bei 27 ± 2 Jahren (MW $\pm$ SEM) in einem Bereich zwischen 21 und 42 Jahren. Das mittlere Idealgewicht nach Broca der an der Studie teilnehmenden Diabetiker betrug 102 ± 2 Prozent (MW $\pm$ SEM) mit einem niedrigsten Wert von 89 und einem Höchstwert von 112 Prozent.

Als Diabetesdauer in der Patientengruppe errechnete sich ein Durchschnittswert von 11 ± 2 Jahren (MW $\pm$ SEM) mit einem Intervall von 2 - 24 Jahren. Bis auf die beiden Patienten UZ und HB waren alle C-Peptid negativ, d. h. sie waren sowohl ohne endogene Insulin- als auch ohne Proinsulinrestsekretion.

Die klinischen Daten der untersuchten zehn Patienten mit labilem Typ I Diabetes mellitus sind detailliert in den nachfolgenden beiden Tabellen auf Seite 35 und 36 (Tab.:4 und Tab.:5) aufgeführt.

PATIENT	GENUS	ALTER	GROSSE	GEWICHT	IDEAL-GEWICHT	BLUTDRUCK	HF	MEDIKAMENTE	SONSTIGE DIAGNOSEN
Initial.		JAHRE	in cm	in kg	Prozent	mm Hg	/min		
WP	m.	22	184	85	112	125/ 80	80		
EK	w.	26	180	78	108	110/ 80	76	Levothyroxin-Na 1 x 0.1 mg	Struma diff. I
WZ	m.	22	163	60	105	130/ 80	72	Furosemid 1x20 mg	Struma diff. I lab. Hypertonus renale Insuff.
ST	m.	42	182	66	89	145/ 95	88	Furosemid 3x40mg Dihydralazin 3x25mg Metoprolol 2x50mg	lab. Hypertonus renale Insuff.
AB	m.	21	167	63	103	105/ 70	88		
UZ	m.	22	183	82	109	120/ 85	84		
MB	m.	26	180	73	101	130/ 80	68		Struma diff. I
HB	m.	33	176	69	97	95/ 75	88		
NM	m.	21	177	66	93	120/ 70	72		
KD	m.	34	176	72	104	140/ 80	72	Metoprolol 3x50 mg Prazosin 3x 2 mg Nifedipin 3x10 mg	Struma diff. I renale Insuff. KHE
MW ± SEM	m.=9 w.=1	27 ± 2	177 + 2	71 + 3	102 ± 2	120/ 80 + 5/ + 2	80 + 2		
Bereich		21-42	163-184	60-85	89-112				

Tab.: 4 (1)KLINISCHE DATEN DER UNTERSUCHTEN TYP I DIABETIKER
(Daten vor Beginn der Studie) KHE: Koronare Herzkrankung

PATIENT	DIABETES- DAUER	C-PEPTID•	INSULIN	BE/TAG	Kcal/TAG	SPAET- KOMPLIKATIONEN
Initial-	Jahre	ng/ml	Präparat I.E./Tag			
WP	2	-	Profil II Profil I	18	2000	
EK	15	-	Insuletard Velesulin	8	1000	N
WZ	16	-	Komb - CR	20	2200	R, N, NEU
ST	18	-	Depot - CR	28	3000	R, N, NEU
AB	7	-	Depot - CS	22	2500	
UZ	5	1.0	Depot - CS	25	2700	N, NEU
MB	8	-	Depot - CR	18	2000	NEU
HB	2	0.5	-	25	2700	
NM	9	-	Depot - H H - Insulin	16	1800	
KD	24	-	Mixtard S Insuletard S	17	1900	R, N, NEU
MW ± SEM	11 ± 2					R: RETINOPATHIE N: NEPHROPATHIE NEU: NEUROPATHIE
Bereich	2 - 24					

Tab.:5 (2)KLINISCHE DATEN DER UNTERSUCHTEN TYP I DIABETIKER
(Daten vor Beginn der Studie) * 6 Min. nach 1 mg Glucagon i.v.

2.2 Studiendesign

2.2.1 Aufbau der Studie

Das von der Ethikkommission der Universität München und der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) genehmigte Studienprotokoll wurde in nachfolgender Form bei allen an der Studie teilnehmenden Patienten mit IDDM beibehalten.

Die Studie bestand aus vier unterschiedlichen Phasen zu jeweils drei aufeinanderfolgenden Tagen und wurde unter extrem standardisierten Bedingungen stationär durchgeführt (Tab.:6).

PRAEPHASE	TEST-PHASE 80/20	TEST-PHASE 90/10	POST-PHASE
TAG 1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10. /11 /12/*
stationaere Durchfuehrung			
Umstellung auf CSII mit Insulin- Monotherapie mit BHI	Kombinations- Therapie mit 20 % BHPI und 80 % BHI	Kombinations- Therapie mit 10 % BHPI und 90 % BHI	Umstellung auf CSII mit Insulin- Monotherapie mit BHI
	bezogen auf 100 % der Dosis der Praephase		
Fortfuehrung der CSII			

Tab.:6 Studiendesign (Aufbau in vier Phasen zu je 3 Tagen);

*: Ambulante Kontrolle nach einem und nach drei Monaten nach Abschluß der stationären Studie.

2.2.1.1 Umstellung auf die CSII - Therapie

Nach einer nächtlichen Fastenperiode von zwölf Stunden erfolgte in der Prä-Phase von Tag eins bis drei die Umstellung der individuell durchgeführten konventionellen Insulininjektionstherapie (CT) auf die kontinuierlich subkutane Insulininfusions-Therapie (CSII) mittels eines portablen Infusionsdosiergeräts, das nachfolgend im einzelnen beschrieben wird. Die Therapieform der CSII wurde während allen Phasen beibehalten.

Die Prä-Phase diente der Nivellierung der Blutglucosespiegel, der individuellen Hormondosisfindung, sowohl bezüglich der Basalraten (BR), der alternativen Basalraten (ABR), als auch der Höhe und Anzahl der präprandialen Bolus-Abgaben, gleichfalls als Zusatzrate (ZR) oder Mahlzeitdosis (MD) bezeichnet.

Unter der Basalrate versteht man die Hormonmenge, die von dem Infusionsdosiergerät kontinuierlich abgegeben wird (berechnet und eingegeben auf eine Zeitdauer von vierundzwanzig Stunden), ausgenommen sind hier die Zusatzraten (ZR) und die Alternative Basalrate (ABR). Die Alternative Basalrate ist eine spezielle Basalrate, die in der Hormondosis von der Basalrate abweicht und, die das Dosiergerät als Alternative zur BR während eines gegebenen Zeitraumes zuführen kann.

Die Begriffe wie Bolus, Zusatzrate und Mahlzeitdosis werden synonym verwendet und verstehen sich als eine Hormoneinzeldosis, die unmittelbar und schnell in Form eines Hormonstoßes appliziert wird.

2.2.1.2 Kombinationstherapie mit zwanzig Prozent BHPI

In der ersten Test-Phase, die sich an die Prä-Phase anschloß, vom vierten bis zum sechsten Tag erfolgte die Umstellung auf eine subkutane kontinuierliche Infusions-Kombinationstherapie mit biosynthetischem Humaninsulin (BHI) und biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI).

Auf der Basis der biologischen Aktivität, der Blutglucose-senkenden Wirkung, angegeben in Internationalen Einheiten (I.E.), wurden mit einem Infusionsdosiergerät achtzig Prozent von der zuvor gegebenen Gesamtdosis der letzten Tage der Prä-Phase in Form von Insulin, und zwanzig Prozent der Gesamtdosis als Proinsulin separat mit einem zweiten Infusionsdosiergerät (Abb.:16) über ein subkutan in der vorderen oder seitlichen Bauchwand des Patienten gelegenes Infusionsset infundiert.



Abb.:16 Infusionsdosiergeräte, die in der Studie verwendet wurden (CPI/LILLY BETATRON™ II Modell 9200).

Das Verhältnis von achtzig zu zwanzig Prozent von Insulin zu Proinsulin wurde in der ersten Testphase sowohl für die Basalraten als auch für die Bolusabgaben (ZR oder MD) beibehalten. Die Veränderung der Basalrate sowie der alternativen Basalrate wurde in ganzen Einheiten, die der Zusatzraten in 1/10 Einheiten vorgenommen.

Die Insulin- bzw. Insulin-/Proinsulin-Abgaberraten wurden in allen vier Phasen entsprechend dem Glucose-Monitoring an den individuellen Bedarf der Patienten adjustiert, um die Glucosehomöostase im Verhältnis zu den anderen Studien-Phasen in einem möglichst konstant vergleichbarem Niveau zu halten.

Zur Vermeidung hyperglykämischer Reboundphänomene (Somogyi-Effekt) (105) wurde in der Hormondosierung insbesondere in den Testphasen unter der Kombinationstherapie von BHI und BHPI in der Adjustierung der abendlichen Zusatz- sowie der nächtlichen Basalraten betont umsichtig vorgegangen.

2.2.1.3 Kombinationstherapie mit zehn Prozent BHPI

Vom siebten bis zum neunten Tag wurde in der Test-Phase II die Insulin/Proinsulin- Kombinationstherapie fortgeführt. In diesem Zeitraum wurde ein Verhältnis von neunzig Prozent Insulin zu zehn Prozent Proinsulin, bezogen auf die individuelle Gesamthormondosis, die für die Glucosehomöostase erforderlich war, s.c. appliziert. Der Abgabemodus für die jeweilige BR bzw. ABR und ZR mit den Infusionsdosiergeräten wurde wie in der ersten Testphase unverändert fortgeführt.

Die definierten Rahmenbedingungen hinsichtlich der Diätetik, der körperlichen Aktivität und der weiteren Studienkonditionen wurden wie in den übrigen Phasen der kontrollierten Studie konstant beibehalten.

2.2.1.4 Umstellung auf Insulin - Monotherapie

2.2.1.4.1 Postphase

In der sich an die Testphase II anschließenden sogenannten Post-Phase von Tag zehn bis zwölf, die die stationäre Studienzeit abschloß, erfolgte die Umstellung auf eine Insulin-Monotherapie mit biosynthetischem Humaninsulin wie in der Prä-Phase, ebenfalls unter Fortführung der CSII - Therapieform wie in den vorhergegangenen Studienphasen. Die für die gesamte Studie aufgestellten Richtlinien bezüglich der individuellen Diabetes-Diät, der körperlichen Aktivität und der übrigen Rahmenbedingungen wurden auch in der Post-Phase weiter beibehalten.

2.2.1.4.2 Post - Postphase

In einer späten Postphase, der sogenannten Post-Postphase, erfolgte nach einem und nach drei Monaten nach Abschluß der stationären Studienphase eine ambulante Kontrolluntersuchung. Bei diesem späteren Follow-Up wurden zusätzlich Labor- und Langzeitparameter analysiert und hinsichtlich des Auftretens eventueller Spätreaktionen nach der subkutanen Gabe von biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) nachgeforscht.

2.2.2 "Open-loop"-System und Methodik der CSII

Bei den heutigen in der Insulinpumpenbehandlung verwendeten portablen Infusionsdosiergeräten handelt es sich um sogenannte "open-loop"-Systeme, bei denen durch die Bestimmung des aktuellen Blutglucosewertes und die daraufhin angepaßte Insulindosierung die "Schleife geschlossen" wird (100, 125, 10).

Da man in der Imitation der physiologischen Stoffwechselverhältnisse bei der Therapie mit Insulininfusionspumpen heute der Situation beim Stoffwechselgesunden (Nichtdiabetiker) am nächsten kommt, wurde für die Studie die kontinuierliche s.c. Infusionstherapie (CSI) als Applikationsweise gewählt (10).

Physiologischerweise findet beim Nichtdiabetiker stets - auch im Nüchternzustand und ebenso über Nacht - eine Basalsekretion von Insulin statt. Zu den einzelnen Mahlzeiten ist zusätzlich Insulin notwendig, um den Blutzuckerspiegel im Bereich der Norm zu halten (91) (Abb.:17).

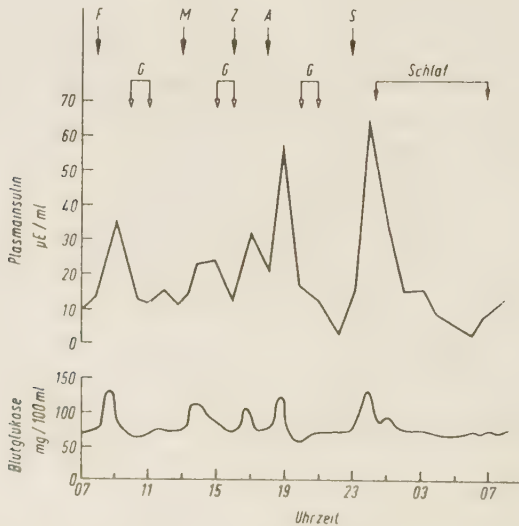


Abb.:17 24-Stundenprofil von Plasmainsulin und Blutglucose (kontinuierliche Registrierung) bei einer normalgewichtigen Versuchsperson (nach Molnar et al. (91); F=Frühstück; M=Mittagessen; Z=Zwischenmahlzeit; A=Abendessen; S=Spätmahlzeit; G=eine Stunde gehen).

2.2.2.1 Abgrenzung zu anderen Substitutionsformen

Die Entwicklung der Insulintherapie umschließt sowohl eine Weiterentwicklung neuer Insulinpräparationen, als auch die Fortentwicklung neuer Applikationsformen. Hierbei nimmt die kontinuierliche Infusionstherapie gegenüber bisherigen Insulintherapieformen eine gesonderte Stellung ein (Tab.:7).

JAHR	ART DER THERAPIE
1922-1985	Subkutane Injektionen
1973	Kontinuierliche i.v.-Insulin-Infusion (CIVII) zur Behandlung der Ketoacidose
1974	Kontinuierliche Infusion zur Therapie des Typ I Diabetes Mellitus: 1. Rueckgekoppeltes System ("closed-loop") "Glucose-Controlled-Insulin-Infusion" (GCIIS), transitorische Applikation 2. Programmierbares Dosiergeraet (Externe Infusionspumpe zur transitorischen und langzeitlichen Anwendung ("open-loop") 2.1 CIVII, transitorische Therapie
1978	2.2 CSII (kontinuierliche subkutane Insulin-Infusion) Routinebehandlung 2.3 CIPII (kontinuierliche intraperitoneale Insulin-Infusion) langzeitige Anwendung
1981	Erste Implantation von Infusionsdosiergeraeten (Interne Insulininfusionspumpe) Rueckgekoppelte CIPII - Therapie
seit 1975	ICT (Intensivierte konventionelle Therapie) - s.c. Injektionstherapie
Experimentierstadium:	Insulinapplikation oral, nasal, rektal, per inhalationem und durch nadellose Jet-Injektionen sowie alternative Therapieformen

Tab.:7 Evolution der Insulin-Applikation (mod. nach Renner (106)).

2.2.2.1.1 Abgrenzung zur Therapieform der CT und ICT

Bei der heute beim insulinpflichtigen Diabetiker im allgemeinen durchgeführten konventionellen Insulintherapie (CT) erfolgt eine ein- bis zweimalige tägliche s.c. Injektion eines Insulinpräparats in Depotform, oder in Kombination mit einem definierten Anteil an Normalinsulin (Altinsulin). Verwendung finden verschiedene Insulinpräparationen, in der Regel mittel- lang wirkende Insuline (Intermediärinsuline) mit unterschiedlich langem Wirkungsspektrum. Die Insulininjektionen werden morgens und abends, zu festgelegten Tageszeiten verabfolgt. Eine an Zeit und Menge exakt definierte Diabetesdiät (Kohlenhydrate, Eiweiß und Fettanteil) muß hierbei auf Grund des starren Insulinwirkspiegels strikt eingehalten werden. Durch die Variabilität der Insulinabsorption, die bei einem Patient bis zu 35 Prozent betragen kann, entsteht auf Grund dessen bereits eine Stoffwechsel-Labilität (11). In derartigen Fällen verringert ein Wechsel auf multiple tägliche Injektionen oder die CSII-Therapie das Problem beträchtlich (11).

Neben der CT kommt der "intensivierten Insulintherapie" (ICT) eine immer größere Bedeutung zu. Bei dieser Form der Insulinbehandlung wird die Substitution des basalen Insulinbedarfs (mit Verzögerungsinsulinen) streng von der Substitution des prandialen Insulinbedarfs (Normalinsulin vor den Mahlzeiten) abgesetzt. Die "intensivierte Insulintherapie" erfordert daher drei bis vier Injektionen pro Tag, je nachdem, ob Mischungen von Normal- und Verzögerungsinsulin vorgenommen werden. Diese intensivierte Insulintherapie ist auch unter der Bezeichnung "Basis-Bolus-Konzept" bekannt geworden. Bei der ICT können Zeitpunkt und Zusammensetzung der Mahlzeiten variabler gestaltet werden. Bei der Injektion von Normalinsulin vor den Mahlzeiten ist es möglich, entsprechend der geplanten Nahrungsaufnahme und dem aktuellen Blutzuckerwert die Dosierung des Normalinsulins anzupassen.

Noch näher - insbesondere was die Gleichmäßigkeit der Hormon-Substitution des basalen Insulinspiegels anbelangt - kommt der physiologischen Insulinfreisetzung die Behandlungsform mit portablen Infusionsdosiergeräten (5, 10).

2.2.2.1.2 Abgrenzung zum "closed-loop"-System

Anfang der siebziger Jahre wurden kontinuierliche Glucose-kontrollierte-Insulin-Infusionssysteme (GCIIS, sogenanntes AEP, Artificial endocrine pancreas, künstliches endokrines Pankreas oder künstliche B-Zelle), für die Behandlung des Diabetes mellitus Typ I (IDDM) mit dem Ziel der Stoffwechsel-normalisierung entwickelt (53, 10)*

Ein derartiges Infusionsgerät stellt der Biostator (GCIIS) dar (98), (Abb.:18). Es handelt sich hierbei um ein computerge-steuertes geschlossenes oder "closed-loop"-System, d. h. der Blutglucosespiegel wird - entsprechend der mittels einer Enzymelektrode (Sensor) extrakorporal kontinuierlich gemes-senen Glucosekonzentration - durch die intravenöse Applikation von Insulin und Glucose auf der Basis spezieller Algorithmen in einem bestimmten vorwählbaren Bereich konstant gehalten (53).

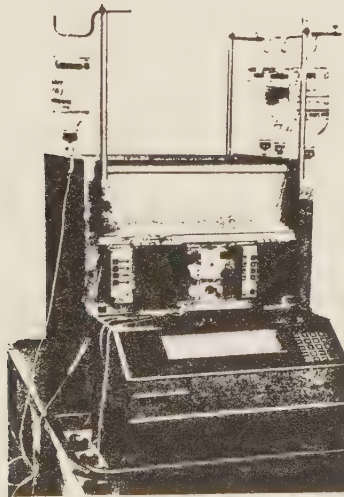


Abb.:18 Künstliches endokrines Pankreas (Biostator - GCIIS) "closed-loop"-System (53).

Nachdem das künstliche endokrine Pankreas, der Biostator ein in vieler Hinsicht aufwendiges System darstellt und daher nur bei stationär therapierten insulinpflichtigen Diabetikern eingesetzt werden kann, ist die klinische Relevanz von nur geringem Ausmaß (62, 125, 10).

Demgegenüber werden seit Ende der siebziger Jahre Dosiergeräte des "open-loop"-Systems, also Infusionsdosiergeräte ohne Rückkopplung mit einem Glucosesensor, in der Therapie des labilen Typ I Diabetikers mit dem Ziel der Normalisierung des Stoffwechsels in zunehmendem Maße eingesetzt (Tab.:8).

"Open-loop"-Infusionssysteme			
Jahr	Anwender	Anwendungsort	Land
1974	Slama et al.	Fontainebleau	Frankreich
1975	Hepp et al.	München	Deutschland
1976	Deckert/Lorup	Gentofte	Dänemark
1977	Genuth/Martin	Cleveland	USA
1977	Pickup et al.	London	England
1978	Service et al.	Rochester	USA
1978	Albisser et al.	Toronto	Kanada
1979	Tamborlane et al.	New Haven	USA

Tab.:8 Kontinuierliche Insulin-Infusions-Therapie mit programmierbaren Infusionsdosiergeräten im sog. "open-loop"-System (nach Hepp (53)).

2.2.2.2 Prinzip und Besonderheiten der CSII - Therapie

Die gesteuerte Insulininfusionszufuhr (CSII) erfolgt bei der Therapie mit Infusionsdosiergeräten im "open-loop"-System im allgemeinen über ein subkutan in der ventralen oder lateralen Abdominalwand des Patienten gelegenes Infusionsset (Katheter). Neben dem subkutanen Infusionsweg gibt es die intravenöse Insulinzufuhr, die jedoch ebenso wie die intraperitoneale Insulinapplikation mit einer Reihe von Komplikationen begleitet ist und zudem mit einem erhöhten Aufwand beim Legen, bei der Kontrolle und beim Wechsel des Infusionskatheters verbunden ist. Daher hat sich heute die von seiten der Infektion als komplikationsärmste, einfachste und sicherste Methode die subkutane Hormonzufuhr in der Langzeitbehandlung durchgesetzt (127).

Die Behandlung des Diabetes mellitus Typ I mit kontinuierlicher subkutaner Insulininfusion (CSII) kann heute, wenn die geforderten Voraussetzungen eingehalten werden, als eine eingeführte Routine-Therapie angesehen werden (10, 143).

In Anlehnung an die physiologische Insulinsekretion wird bei der Therapieform der kontinuierlichen Insulininfusion (CSI) mit Infusionsdosiergeräten rasch wirksames Insulin (Normalinsulin, auch als Altinsulin bezeichnet) kontinuierlich in Form einer konstanten Basalrate infundiert; zusätzlich werden jeweils vor den Mahlzeiten variable Mengen an Insulin als Zusatzrate oder Bolus appliziert (26, 10). Die adäquate Dosierung der Basal- und Zusatzraten richtet sich nach dem aktuell gemessenen Blutglucosespiegel mit dem Ziel eine normoglykämische Stoffwechsellage zu erreichen. Die Pharmakokinetik von kontinuierlich subkutan infundiertem Insulin folgt denselben Prinzipien wie für eine Bolusinjektion von Normalinsulin (80).

2.2.2.3 Methodik und Praxis der CSII

Bei den heutigen Infusionsdosiergeräten wird zur Abgabe der Basal- und Zusatzraten (Bolus) der Kolben einer mit Insulin gefüllten Spritze durch einen batteriegetriebenen Motor mit hoher Präzision vorwärts geschoben. Für die Zufuhr der Basalrate rotiert die Führungsschraube in definierten Zeitintervallen, wodurch in Form einzelner Vorschübe kleinste präzise Mengen an Insulin infundiert werden. Die Abgabe zusätzlicher Insulindosen, beispielsweise präprandialer Zusatzraten, erfolgt durch exakt berechnete automatische Drehung der Führungsschraube entsprechend der vorgegebenen Insulinmenge. Die Infusionsdosiergeräte verfügen über eine variable basale Flußrate, d. h. durch Änderungen der Zeitintervalle zwischen den einzelnen Vorschüben kann die Insulinbasalrate modifiziert werden. Die Applikation der Zusatzraten erfolgt in Form eines präprandialen Bolus (Zusatzrate oder Mahlzeitdosis), um postprandial einen rasch ansteigenden Hormonspiegel zu erreichen (144, 10).

Neben den einfacheren mit elektronischen Schaltsystemen ausgestatteten Geräten gibt es programmierbare, mikroprozessor-kontrollierte Infusionsdosiergeräte. Eine Version dieser computergesteuerten Mikrodosiergeräte fand in dieser Studie Verwendung und wird im folgenden näher erläutert.

Die Infusionspumpen werden üblicherweise an einem Gürtel befestigt unter oder über der Kleidung getragen. Für die subkutane Insulinzufuhr stehen unterschiedliche Infusionssysteme (Katheter) mit Metall- oder Teflonkanülen zur Verfügung. Je nach der individuellen Verträglichkeit können die Infusionskatheter mit Metallkanülen maximal bis zu drei Tagen an derselben s.c. Insertionsstelle belassen werden (10, 142, 144).

2.2.2.4 Allgemeine Risiken unter CSII - Therapie

Bezüglich der Risiken der Therapie mit Infusionsdosiergeräten sind als generelles Risiko einer jeden Insulinsubstitutionsbehandlung das Auftreten schwerer Hypoglykämieereignisse zu nennen. Sie sind nahezu stets Folge einer inadäquat hohen Insulindosis, zum Beispiel einer zu hohen Basalrate bei der Insulinpumpen-Therapie (84). Als weitere Ursache kommt eine vermehrte körperliche Aktivität mit erniedrigtem Insulinbedarf in Betracht. Ein eventuell technischer Defekt des Infusionsdosiergeräts ist heute äußerst selten (144).

Nach einer Langzeitstudie von Mecklenburg et al., die die Komplikationsrate bei konventioneller Injektions- (CT) und Infusionspumpentherapie (CSII) vergleicht, konnte gezeigt werden, daß das Risiko schwerer Hypoglykämieereignisse unter der Behandlungsform der CSII nicht erhöht ist (87).

Eine weitere Komplikation der Therapie des Typ I Diabetes mellitus stellt die ketoazidotische Stoffwechselentgleisung dar. Die meisten dieser Entgleisungen treten im Rahmen von Infektionskrankheiten auf. Seltene Ursachen sind eine vergessene Insulinabgabe und technische Behinderungen des Insulinzufuhrsystems (144).

Nach Sonnenberg et al. ist die kontinuierliche subkutane Insulininfusionstherapie (CSII), wenn sie unter den geforderten Voraussetzungen und Richtlinien durchgeführt wird, nicht mit einem höheren Risiko schwerer Hypoglykämien oder ketoazidotischer Entgleisungen belastet als die konventionelle Insulinspritzen-Behandlung (CT) (144).

2.2.2.5 Spezifische Komplikationen und Probleme bei CSII

Zusätzlich zu den generellen Risiken und Komplikationen in der Therapie insulinpflichtiger Diabetiker sind bei der Behandlung unter CSII Infusionspumpen-spezifische Komplikationen zu erwähnen, die durch die Technik der Insulinzufuhr bedingt sein können. Technische Defekte wie Motor- und Batterieversagen sind bei den heute zum Einsatz kommenden Infusionsdosiergeräten selten und werden zudem durch Alarmsysteme, begleitet von umgehendem Abschalten der kontinuierlichen Insulinzufuhr, angezeigt. Weit häufiger verursachen die Infusionssysteme Probleme, wie Diskonnektion zwischen Spritze und Infusionsansatz sowie ein Abknicken oder Herausrutschen des Katheters aus der subkutanen Insertionsstelle. Das Auftreten dieser Probleme und somit das Auftreten von Hyperglykämien, kann durch eine mehrmals täglich durchgeführte konsequente Kontrolle des Infusionssystems reduziert werden (62).

Bei manchen Patienten entstehen bindegewebige reversible Knotenbildungen an der im subkutanen Gewebe liegenden Katheterspitze, die als Fremdkörperreaktion angesehen werden müssen. Als Folge kann eine verminderte Insulinabsorption eintreten. Als Faktoren zu solchen Gewebsreaktionen scheinen neben einer individuellen genetischen Disposition das Material der Katheterspitze, eine längere Liegedauer des Infusionssets, sowie das Volumen des infundierten Insulins eine Rolle zu spielen. Das Auftreten von Abszeßbildungen an der s.c. Infusionsinsertionsstelle des Infusionssets ist unter Beachtung der erforderlichen Sorgfalt selten (62, 144).

Nach einer amerikanischen Studie zur Mortalitätsrate sowie nach den heute vorliegenden Daten über das Auftreten schwerer Hypoglykämie-Ereignisse und Ketoazidosen, stellt die Therapieform mit Infusionsdosiergeräten (CSII) keine risikoreichere Behandlungsform des Typ I Diabetes mellitus als die konventionelle Injektionstherapie mit Insulinspritzen (CT) dar (157, 144).

2.2.3 Rahmenbedingungen der Studie

Alle an der Studie teilnehmenden Patienten mit IDDM erhielten vor der Teilnahme an derselben eine ausführliche Instruktion über Studienaufbau und -durchführung, eine umfassende Aufklärung über eventuelle Risiken, sowie eine intensive Schulung bezüglich der speziellen Form der Therapie sowie sonstiger mit dieser ursächlich in Zusammenhang stehender Besonderheiten.

2.2.3.1 Diabetes - Diät

Während der Studie wurde eine Diabetes-Diät mit einer Verteilung auf sechs Mahlzeiten pro Tag gegeben, wobei der individuelle Kalorienbedarf der Patienten Berücksichtigung fand.

Die diätetische Verteilung der drei Grundnährstoffe auf den Gesamtkalorienbedarf der Nahrung fand in folgender Relation statt: fünfzig Prozent Kohlenhydrate (KH), fünfzehn Prozent Eiweiß und fünfunddreißig Prozent Fett. Um den Kohlenhydratgehalt der verschiedenen Nahrungsmittel vergleichen zu können, wurde in Deutschland und Österreich die Bezeichnung "Broteinheit" (BE), der "Wert" in der Schweiz oder "portion" in England und USA konzipiert (125, 10). Dabei entspricht eine BE derjenigen Menge eines Nahrungsmittels in Gramm, das zwölf Gramm Kohlenhydrate oder fünfzig Kilokalorien enthält (97).

Das für jeden Patienten anfangs individuell errechnete Diätschema wurde während des gesamten Studienzeitraumes in allen vier Phasen in gegebenem Rahmen beibehalten.

2.2.3.2 Körperliche Aktivität

Neben der strikt verabfolgten Diabetes-Diät wurde den Patienten mit IDDM in Annäherung an ihre normalen Lebensbedingungen eine individuell standardisierte körperliche Aktivität ermöglicht, die in ihrem Ausmaß während der gesamten Studienzeit konstant gehalten wurde. Aufgrund der CSII - Therapie mit portablen Infusionsdosiergeräten war die Mobilität der Patienten nicht eingeschränkt, so daß deren tägliche körperliche Bewegung unter stationären Bedingungen in allen Phasen vergleichbar war.

2.2.3.3 Klinische Überwachung

Während der Studie wurden die Patienten rund um die Uhr kontinuierlich betreut, engmaschig kontrolliert und klinisch überwacht. Auf diese Weise konnten alle eventuell auftretender Anzeichen und Symptome einer Stoffwechselentgleisung registriert und im Bedarfsfall umgehend durch entsprechende Maßnahmen ausgeglichen werden.

2.2.3.4 Probennahme

Über einen über den gesamten Zeitraum der Testphasen unter Kombinationstherapie mit BHI und BHPI liegenden peripheren Venenkatheter wurde stündlich von 7.00 bis 22.00 Uhr Blut für Glucosemessungen, und sechs mal täglich zu den folgenden Kontrollzeitpunkten, um 7.00, 9.00, 12.00, 15.00, 18.00 und 22.00 Uhr Proben zur Bestimmung von Kalium und folgender Hormone wie Serum-Gesamtinsulin, freiem Insulin, "Proinsulin", Glucagon, Cortisol, Wachstumshormon und Prolaktin gewonnen. Die Proben wurden anschließend in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert, das Serum dekantiert und bei einer Temperatur von minus achtzig Grad Celsius gesammelt und aufbewahrt. Nach dem Studienabschluß eines Patienten erfolgte die Analyse der einzelnen Serumproben in einem Assay.

Um eine möglichst ungestörte Nachtruhe zu ermöglichen, wurden nur wenige Bestimmungen der Blutglucose in dem Zeitraum von 22.00 Uhr und 7.00 Uhr durchgeführt.

Weiterhin wurden als Laborparameter zu Anfang, während der Studie täglich das Blutbild, am vierten Tag zu Beginn der ersten Testphase, am siebten Tag zu Beginn der zweiten Test-Phase und am zehnten Tag nach Ende der Testphase, sowie nach einem und nach drei Monaten das Blutbild, die Kontroll-Serumchemie und der Urin analysiert. Zusätzlich wurde vor Beginn und nach Abschluß der stationären Studie ein Elektrokardiogramm geschrieben, ein klinischer Status erhoben und Proben für die Bestimmung von Antikörpern gegen BHI, BHPI und E. coli gewonnen (Tab.:9).

PHASE	PRAE-PHASE		TESTPHASE 80/20		TESTPHASE 90/10		POSTPHASE		POST-POST-PHASE	
TAG	1	2/3	4	5/6	7	8/9	10	11/12	n.1/3 Mon.	
BG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hormone			+	+	+	+	+		+	+
Kalium	+		+	+	+	+	+		+	+
HbA ₁			+				+		+	+
GSA			+				+		+	+
GSP			+				+		+	+
AK			+				+		+	+
Kontrolle	+		+		+		+		+	+
Blutbild	+		+	+	+	+	+		+	+

Tab.:9 Laborparameter während der Studie (BG = Blutglucose; HbA₁ = Hämoglobin A₁; GSA = glykosiliertes Albumin; GSP = glykosiliertes Gesamtprotein; AK = Antikörper gegen BHI, BHPI und E. coli; Kontrolle = Serumchemiebestimmungen (s. Tab.:14) und Urin-Analysen (s. 2.4.4.3.3); + : Parameter wurde zum angegebenen Kontrollzeitpunkt analysiert.

2.3 Material

2.3.1 Substanzen

Die nachfolgend genannten Hormone wurden von Eli LILLY Inc., Indianapolis, USA und Eli LILLY, Bad Homburg v.d.H, Deutschland für die Studie zur Verfügung gestellt.

2.3.1.1. Biosynthetisches Humaninsulin

Für die kontinuierliche s.c. Insulininfusionstherapie wurde in allen vier Phasen der Studie das durch DNA-Neukombination gentechnologisch hergestellte vollsynthetisierte biosynthetische Humaninsulin "Huminsulin^R Normal 100" LILLY (BHI) (Z19 D 30A, Z02 G 30D, Z28 E 40C) verwendet. Die Konzentration von BHI betrug 100 I.E. pro Milliliter bei einer Stärke von 28 I.E. pro Milligramm. Ein Milliliter enthält 100 I.E. BHI in steriler, neutraler, blutisotonischer Lösung. Als Konservierungsmittel sind 2.5 Milligramm m-Cresol pro Milliliter zugesetzt.

2.3.1.2. Biosynthetisches humanes Proinsulin

Für die Kombinationstherapie in den beiden Testphasen wurde zu biosynthetischem Humaninsulin (BHI) zusätzlich das gleichfalls mittels Gentechnologie durch DNA-Neukombination synthetisierte "Biosynthetische Human Proinsulin" LILLY (BHPI) (CT-5765-2B, CT-5765-2C, CT-5765-3D) eingesetzt. Die Konzentration von BHPI betrug zwölf I.E. pro Milliliter bei einer Stärke von vier I.E. pro Milligramm. In einem Milliliter sind 12 I.E. BHPI in steriler, neutraler, blutisotonischer Lösung enthalten. Als Konservierungsmittel sind 2.5 Milligramm m-Cresol, 16 Milligramm Glycerin, 3.78 Milligramm Natriumphosphat, Injektionswasser, USP, Salzsäure und/oder Natriumhydroxid zur pH - Anpassung pro Milliliter hinzugefügt.

2.3.2 Mikrocomputergesteuertes Infusionsdosiergerät

Für die Applikation der beiden Hormone BHI und BHPI wurde jeweils eine CPI/LILLY - BETATRON™ II (Modell 9200), ein Mikroprozessor-gesteuertes Infusionsdosiergerät der neuen Generation eingesetzt (Cardiac Pacemakers Inc. (16) und Eli LILLY Inc., St.Paul, Minnesota, USA), (Abb.:19). Die BETATRON™ II zählt mit zu den modernsten Infusionsdosiergeräten des sogenannten "open-loop"-Systems für die kontinuierliche subkutane Infusionstherapie (CSII).

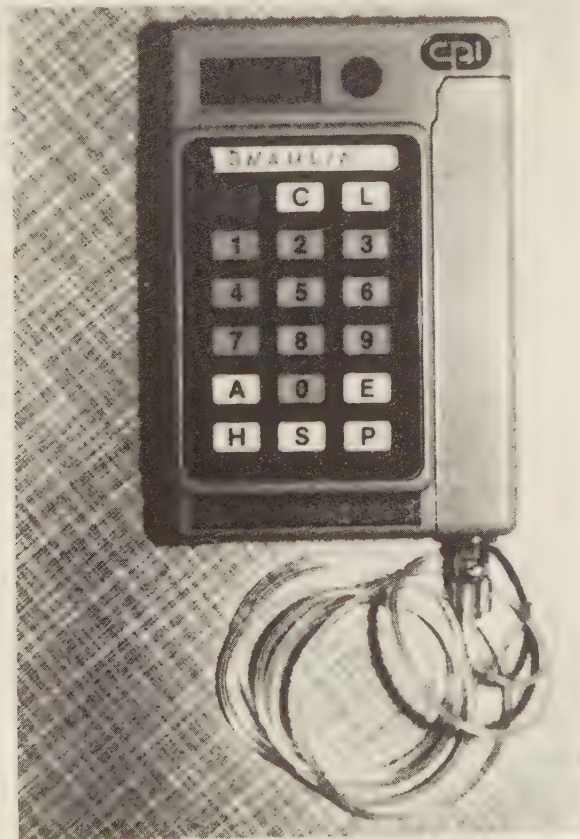


Abb.:19 Infusionsdosiergerät CPI/LILLY BETATRON™ II
(Originalgröße im Maßstab 1:1 mit 99 x 66 mm).

2.3.2.1 Beschreibung der BETATRON™ II

Die CPI/LILLY BETATRON™ II stellt eine konsequente Weiterentwicklung des Vorgängermodells der CPI/LILLY Modell 9100 dar, das mit seiner Einführung technologisch richtungsweisend war, und bereits über diejenigen wesentlichen Funktionen verfügte, die von einem Infusionsdosiergerät im "open-loop"-System gefordert werden.

Eine Verbesserung hat die BETATRON™ II insbesondere in einer weiteren Miniaturisierung und in der Erweiterung einiger spezieller Programmfunktionen, wie etwa einer programmierbaren absenkenden alternativen Basalrate (ABR), erfahren (Tab.:10).

Technische Daten der CPI BETATRON™ II (Modell 9200)	
Groesse:	99 x 66 x 20 Millimeter (H x B x T)
Gewicht:	197 Gramm
Reservoir:	1.5 Milliliter
Energiesystem:	wiederaufladbare Nickelcadmium-"Batterie" (NiCed-Akku mit 100 mAH) und eine 3 Volt Lithium-Magnesiumoxid Sicherheitsbatterie (50 mAH)
Kapazität:	Hauptbatterie (Akku): Minimum 30 Stunden Sicherheitsbatterie: 50 Stunden (6 Monate)
Aufladezyklus:	Hauptbatterie: 14 - 16 Stunden
Bedienung:	Tastatur mit 17 Membran-Drucktasten in Sensortechnik
Digitalanzeige:	vierstellige Flüssigkristallanzeige (LCD) Höhe der Ziffern: 6.35 Millimeter, Anzeige der Funktionsspeicher, Konzentration, Einheiten, Minuten, Stunden und optische Alarmsignale
Programmspeicher:	17 Funktionsspeicher

Tab.:10 Technische Daten der BETATRON™ II (Modell 9200), (Physician's Manual - CPI/LILLY (16)).

2.3.2.1.1 Bedienungstastatur

Die Bedienung der BETATRONTM II - Infusionspumpe erfolgt über eine Eingabetastatur mit siebzehn elektronisch gesteuerten Membran-Drucktasten in Sensortechnik, im Aufbau einem der heutigen Elektronenrechner vergleichbar (Abb.:20).

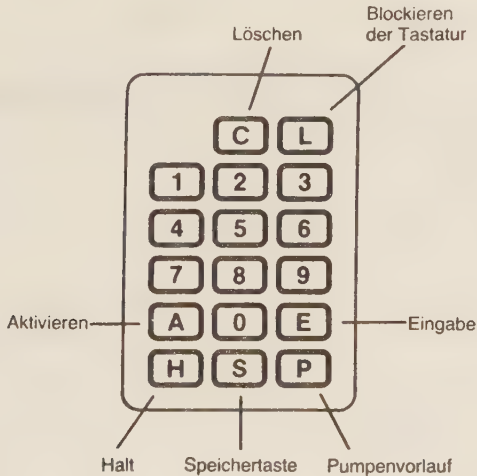


Abb.:20 Bedienungstastatur der BETATRONTM II

2.3.2.1.2 LCD - Anzeige

Auf einer vierstelligen Flüssigkristall-Multifunktionsanzeige (LCD-Display) sind alle Programmiervorgänge und Betriebsabläufe optisch kontrollierbar. In der digitalen Anzeige werden die verschiedenen Funktionsspeicher, die eingegebene Konzentration, die Zahl der Internationalen Einheiten (I.E), die Minuten und die optischen Alarmsignale ausgewiesen (Abb.:21).

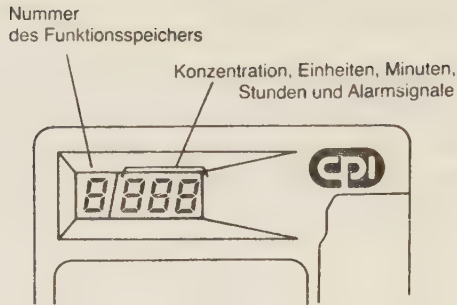


Abb.:21 LCD - Anzeige der BETATRONTM II

2.3.2.1.3 Antriebssystem und Reservoir

Das Mikrodosiergerät verfügt über einen präzise arbeitenden Antriebsmotor, der den Kolben des Reservoirs in elektronisch exakt definierten Schritten vorwärtsschiebt (Spritzenpumpenprinzip). Die Abgabe der basalen Hormonmenge (BR) erfolgt bei der BETATRONTM II nicht in Form von Rechteckimpulsen, sondern in regelmäßigen Intervallen von kontinuierlichen Mikroliter-schritten. Das Antriebssystem der BETATRONTM II weist eine besonders konstruierte Spritzenaufnahme für das Reservoir auf (Abb.:22).

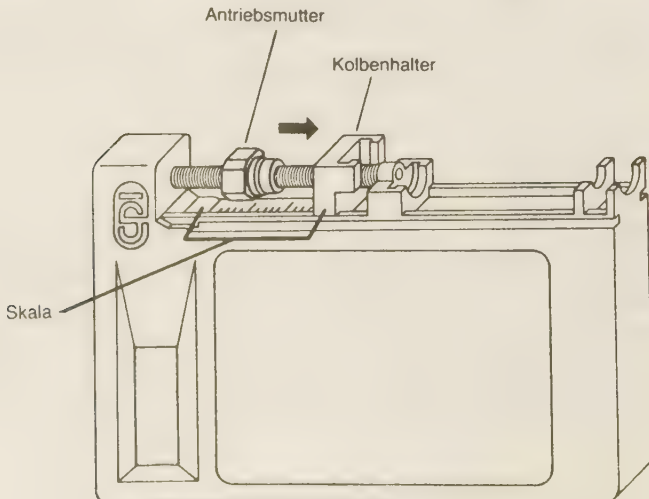


Abb.:22 Antriebssystem der BETATRONTM II

Das Hormonreservoir der Infusionspumpe besteht aus einer speziell angefertigten Einmalspritze mit einem Fassungsvermögen von 1.5 Milliliter. Über den Spritzenansatz, der als genormter Luer-Lock-Anschluß ausgelegt ist, wird das Reservoir mit dem Infusionssystem (Katheter) verbunden (Abb.:23).

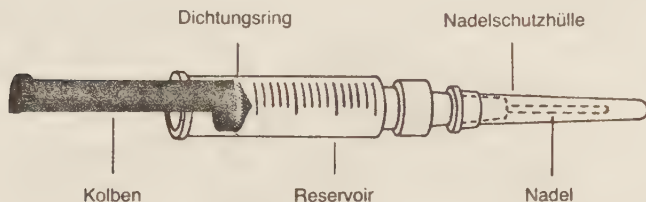


Abb.:23 Hormonreservoir des Infusionsdosiergeräts

2.3.2.1.4 Energieversorgungssystem

Die Energieversorgung der CPI - BETATRONTM II erfolgt über einen wiederaufladbaren Nickel-Cadmium-Akkumulator, der sowohl den Antriebsmotor, als auch den Mikrocomputer kontinuierlich mit Strom versorgt (Abb.:24). In einem Akkumulator erfolgt die Speicherung von elektrischer Energie in Form von chemischer Energie. Der Vorteil des NiCad-Akkus gegenüber einer herkömmlichen Batterie liegt in der Beibehaltung einer gleichmäßigen Netzspannung, die bis zu einem Grenzwert des Ladungszustands des Akkumulators nahezu konstant aufrechterhalten wird. Dieser Umstand gewährleistet insbesondere einen präzise arbeitenden Funktionszustand des Antriebssystems des Infusionsdosiergeräts.

Zur weiteren Sicherheit erfolgt der Akku-Wechsel in regelmäßigen Zeitintervallen bis zu maximal vierundzwanzig Stunden (bei vollem Ladezustand Energiereserve bis zu 30 Stunden). Bei zu geringer Spannung des Akkus aktiviert das Infusionsdosiergerät selbstständig die Haltfunktion und gibt automatisch Alarm.

Zur Speicherung und zum Schutz der individuell programmierten Daten bei Wechsel des NiCad-Akkus ist die CPI BETATRON™ II zusätzlich mit einer langlebigen speziellen Lithium-Mangandioxid Sicherheitsbatterie in Form einer kleinen Batteriezelle versehen (Abb.:25). Dadurch entfällt eine sonst notwendigerweise erforderliche erneute Programmierung der zuvor gespeicherten Daten nach einem Akkuwechsel.

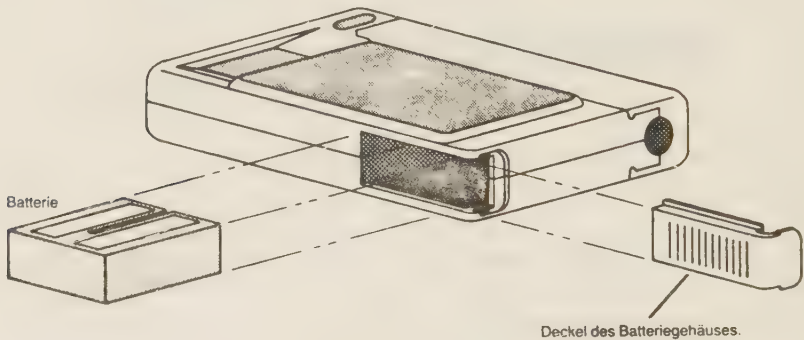


Abb.:24 Energieversorgungssystem der BETATRON™ II

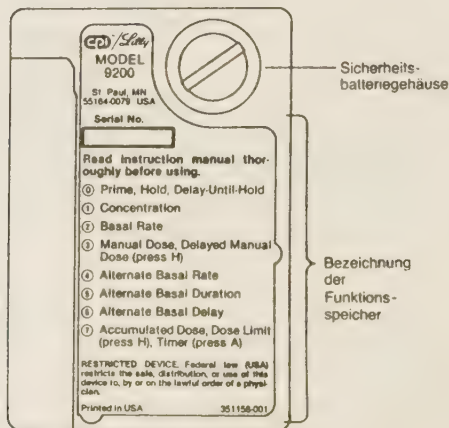


Abb.:25 Sicherheitsbatterie der BETATRON™ II

2.3.2.1.5 Gerätezubehör

Das Gerätezubehör der BETATRONTM II besteht aus einem speziellen Ladegerät für den NiCad-Akku (Abb.:26), dem dazugehörigen Netzteil, drei Akkus zur Rotation (einer im Dosiergerät, ein zweiter voll aufgeladen als Reserve-Akku und ein dritter, der sich im Ladegerät befindet), sowie einer Ledertragetasche mit Sicht- und Bedienungsfenster für die Membrandrucktasten und zur visuellen Kontrolle der LCD - Anzeige.

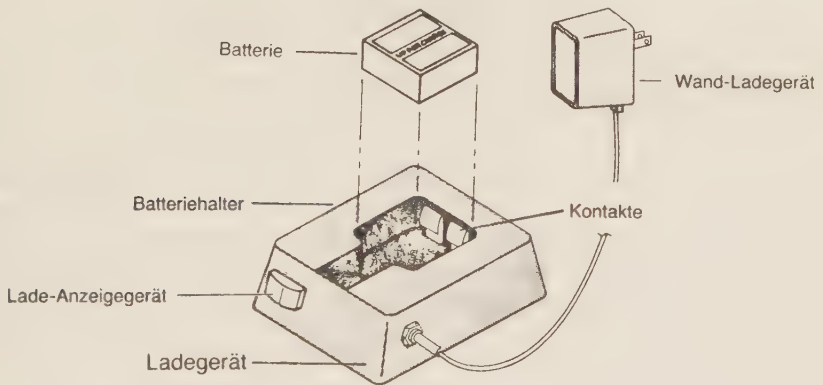


Abb.:26 Ladegerät für den NiCad-Akku der BETATRONTM II

Weiterhin zählen zum Gerätezubehör das steril in Folie eingeschweißte speziell für das BETATRONTM II - Infusionsdosiergerät gefertigte zuvor beschriebene CPI/LILLY Spritzenreservoir mit 1.5 Milliliter, das CPI/LILLY Infusion Set (Infusionskatheter) aus PVC - Material und die CPI/ LILLY Sicherheitsbesteckklemme, gedacht zur zusätzlichen Blockierung des Infusionssystems während der Manipulation am Infusionsbesteck bei Anlage desselben.

Nachfolgend das CPI/LILLY Infusion Set (Infusionskatheter), bestehend aus einem transparenten PVC - Material mit eingeschweißter Metallkanüle (Abb.:27).

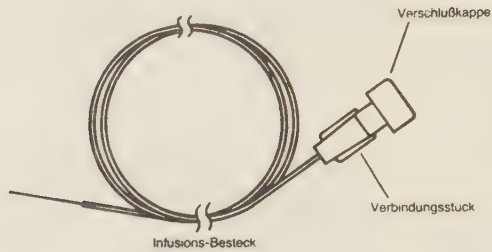


Abb.:27 CPI/LILLY - Infusionssystem

Die CPI/ LILLY Sicherheitsbesteckklemme zur mechanischen Unterbrechung der Infusionszufuhr stellt ein zusätzliches Hilfsmittel zur Sicherstellung und Vermeidung eines versehentlichen Einbringens einer unbeabsichtigt zugeführten Hormonmenge in den Organismus dar (Abb.:28). Die Sicherheitsbesteckklemme wurde bei jeglicher Manipulation am Infusionssystem verwendet.

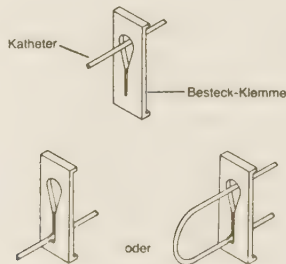


Abb.:28 CPI/LILLY Sicherheitsbesteckklemme

2.3.2.2 Programmierung und spezielle Einrichtungen

Die spezielle Programmsteuerung des mikroprozessorgesteuerten Infusionsdosiergeräts bietet auf Grund ihrer verschiedenen Funktionsspeicher vielseitig anwendbare Therapiemöglichkeiten.

2.3.2.2.1 Programm - Speicher

Die Mikroprozessor-gesteuerte Elektronik der CPI BETATRONTM II umfaßt siebzehn Programmspeicher, deren einzelne Funktionen im folgenden aufgezeigt sind (Tab.:11).

Programmierbare Funktionsspeicher		
Funktion	Vorgang	Bereich/Einheiten
Konzentration	Konzentrationseingabe	40 od. 100 I.E./ml
Basalrate (BR)	Eingabe BR-Dosis/h	1-150 I.E./ 24 h
Zusatzrate (ZR)	Zufuhr eines Bolus	0.1-20 in I.E.
Alternative BR	Eingabe ABR-Dosis/h	1-500 I.E./ 24 h
ABR-Zufuhr	Eingabe ABR-Dauer	1-999 in Minuten
ABR-Verzoegerung	Eingabe ABR-Beginn	0-999 in Minuten
Bolusverzoegerung	Eingabe Bolusbeginn	1-999 in Minuten
Dosisbegrenzung	Eingabe Dosislimit	1-999 in I.E.

Tab.:11 Funktionsspeicher der CPI/LILLY BETATRONTM II

2.3.2.2.2 Alarmsignale

Das Infusionsdosiergerät ist versehen mit einem durchdachten Alarmsystem mit optisch und/oder akustischer Signalanzeige bei nachgenannten Ereignissen (Tab.:12).

Alarmsignale (optisch und/oder akustisch)
- unsachgemäße Eingabe (z.B. Bolus >20 Einheiten) - schwacher NiCad-Akkumulator (Daueralarmton) - Antriebsmotor defekt (Daueralarmton) - Infusionsbesteck okkludiert (Daueralarmton) - Mikrocomputer defekt (fehlendes Ruecksendesignal) - leeres Reservoir (Daueralarmton) - Programmspeicher defekt (Anzeige im Display) - Dosisbegrenzung (Stop und Alarm bei Dosislimit) - programmierter Stop und Alarm (1 - 16 Stunden) - Haltposition (Signalton alle 5 Minuten)

Tab.:12 Alarmfunktionen der BETATRONTM II

Das Programm der BETATRONTM II überwacht und kontrolliert verschiedene Betriebszustände und prüft die Plausibilität bei der Bedienung. Beispielsweise gibt das Gerät bei fehlerhafter Eingabe einer Hormonmenge von 22 I.E. Alarm, da das Limit der Einheiten der Zusatzrate überschritten wurde. Ebenso werden verschiedene Defektzustände, z. B. ein defekter Antriebsmotor, ein zu schwacher Akku oder ein okkludiertes Infusionssystem von dem Dosiergerät erkannt und durch optischen und/oder akustischen Alarm angezeigt. Damit wird bei dem Dosiergerät ein hohes Maß an Betriebssicherheit erreicht (s. Risiken).

2.3.2.2.3 Zusatzeinrichtungen

Weiterhin sind in der CPI BETATRONTM II eine Reihe von Zusatzeinrichtungen integriert, die einer einfachen Handhabung und einem funktionsgerechten und sicheren Gebrauch bei der therapeutischen Anwendung dienen sollen (Tab.:13).

Programmierbare Zusatzeinrichtungen	
Akkumulierte Dosis:	Gesamtzahl der abgegebenen Hormonmenge (BR, ABR + ZR in I.E.) / Zeitintervall
Funktionsspeicher- prüfung: (Self-Test)	Funktionsueberwachung nach einem Akkuwechsel, d. h. die Funktionsspeicher 0 bis 7 werden automatisch durchlaufen, die Anzeige und Kontrolle erfolgt ueber das LCD-Display
Verriegelung der Tastatur:	zur Sicherheit Blockade der Bedienungstastatur zum Schutz vor unbeabsichtigter Programmierung und Hormonabgabe
Signalton- kontrolle:	zur Bestaetigung der Dateneingabe sowie akustischer Alarm zur Fehlermeldung
Pumpenvorlauf:	Funktion zum Fuellen des Infusionssystems
Haltposition:	Funktion zum sofortigen Unterbrechen der kontinuierlichen Hormonzufuhr
Reaktions- zeitmessung:	Zeitgeber als Hilfsmittel zur Messung von Blut- und Harnzucker (0 - 180 Sekunden)

Tab.:13 Zusatzfunktionen der CPI/LILLY BETATRONTM II

2.3.2.3 Inbetriebnahme und Arbeitsweise des Dosiergeräts

Die BETATRONTM II zeigt sich in der täglichen Bedienung relativ unkompliziert. Die logisch konzipierte Tastatur, die optische und akustische Überprüfbarkeit der einzelnen Programmervorgänge, z.B. Fehlermeldung bei bestimmten Fehlbedienungen, erleichtert nennenswert den täglichen Einsatz.

2.3.2.3.1 Vorbereitung der CSII - Therapie

Nach eingehender theoretischer und intensiver praktischer Unterweisung der Patienten mit labilem IDDM an dem CPI/LILLY BETATRONTM II- Infusionsdosiergerät, mit Einübung möglicher unvorhergesehener Situationen während der kontinuierlichen subkutanen Infusions-Therapie (CSII), erfolgt der Therapiebeginn am frühen Vormittag.

2.3.2.3.2 Inbetriebnahme des Mikrodosiergeräts

Die Inbetriebnahme des Infusionsdosiergeräts BETATRONTM II erfolgt in der nachfolgend beschriebenen Reihenfolge:

1. Einlegen der Sicherheitsbatterie und eines voll geladenen NiCad-Akkus in die BETATRONTM II;
2. Programmierung von Konzentration und Basalrate;
3. Überprüfung der einzelnen Funktionsspeicher;
4. Entnahme des steril in Folie eingeschweißten pyrogenfreien CPI/LILLY-Reservoirs und Auffüllen desselben mit der entsprechenden Substanz (BHI bzw. BHPI);
5. Gründliche Händedesinfektion mit allgemein üblichem Desinfektionsmittel (z.B. Sterilium^R) und Entnahme des steril in Folie eingeschweißten pyrogenfreien CPI/LILLY-Infusionssets (Katheter);
6. Überprüfung des Kathetermaterials auf Unversehrtheit und Konnektion des CPI-Infusionssets mit dem Hormonreservoir;
7. Einlegen des Hormonreservoirs in die Halterung des Mikroinfusionsdosiergeräts;
8. Füllen des Infusionssystems mit der entsprechenden Substanz durch Aktivierung des Pumpenvorlaufs;
9. Kontrolle des Füllungszustandes und Entfernung von eventuellen Luftbläschen aus dem Infusionssystem;
10. Programmierung der Halt-Position der BETATRONTM II.

2.3.2.3.3 Anlegen des Infusionssystems

Während der Anlage des CPI/LILLY-Infusionssystems (Katheters) befindet sich die BETATRONTM II - Infusionspumpe weiterhin in Halt-Position.

Beim Legen des Katheters ist folgendes Vorgehen sinnvoll:

1. Mit Setzen der speziellen Sicherheitsbesteckklemme an das Infusionssystem ist die Bereitschaft zur Anlage des Infusionssets und zur Aufnahme der kontinuierlichen subkutanen Infusionstherapie gegeben;
2. Gründliche Händedesinfektion mit üblichem Desinfektionsmittel (z.B. Sterilium^R);
3. Vollständige Desinfektion der vorgewählten abdominalen Hautregion mittels üblichem Hautdesinfiziens (z.B. Kodan^R- oder Cutaseptspray^R);
4. Nach Trocknung des gereinigten Hautareals Abnahme der Nadelschutzhülle des Infusionssets (Vermeidung des Einbringens des Desinfiziens unter das Hautniveau);
5. Fixierung des desinfizierten Hautareals und Einstich der Nadel in horizontalem Winkel von 30 bis 45 Grad (bzw. je nach Situation des s.c. Fettgewebes) in die mittlere Subkutis der ventralen Abdominalregion;
6. Stabilisierung der Nadel an der Insertionsstelle;
7. Legen von Sicherheitsschleifen zur Vermeidung einer Dislokation der Nadel bei event. Hängenbleiben am Infusionssystem;
8. Anlage eines sterilen, hypoallergen, Sauerstoffdurchlässigen und antibakteriellen Transparentverbandes (TegadermTM, 3M, USA), zur Sicherung der Nadel des Infusionssets, Vermeidung einer Dislokation und möglichen Beobachtung der Insertionsstelle zur frühen Erkennung eventuell auftretender Unverträglichkeitserscheinungen;
9. Kontrolle des Infusionssystems auf Füllungszustand und Entfernung der Sicherheitsbesteckklemme vom Infusionssystem;
10. Inbetriebnahme des BETATRONTM II Infusionsdosiergeräts durch Aktivierung der Basalrate (BR) durch Desaktivierung der Haltfunktion (Abb.:29).

Der Wechsel des Insertionsortes des Infusionssets im Bereich des ventralen Abdomens erfolgte alle 24 Stunden im Rotationsprinzip unter Beibehaltung der gleichen Abdominalseite für die Infusion der Hormone BHI und BHPI. Zwischen den jeweiligen Insertionsstellen wurde ein Mindestabstand von etwa drei Zentimetern eingehalten.



Abb.:29 Typische Trageweise der Mikrodosiergeräte in den Testphasen während der Studie unter der subkutanen Kombinationstherapie mit BHI und BHPI.

2.3.2.3.4 Arbeitsweise des Infusionsdosiergeräts

Das Grundprinzip bei der Behandlungsform der CSII ist eine Imitation der physiologischen Verhältnisse, indem man versucht die kontinuierliche endogene Insulinsekretion des Nichtdiabetikers durch ein zeitgerechtes Sekretionsmuster des endogen fehlenden Hormons durch eine kontinuierliche exogene Zufuhr mit dem Infusionsdosiergerät nachzuahmen (125, 10).

Mit einer individuell festgelegten Insulin - Basalrate (BR), die von der Infusionspumpe kontinuierlich abgegeben wird, berechnet und eingegeben auf einen Zeitraum von 24 Stunden (in I.E.), wird eine basale Hormondosis substituiert.

Zusätzlich zur kontinuierlich infundierten Insulinmenge als Basalrate über 24 Stunden werden in Anlehnung an die Situation beim Nichtdiabetiker präprandiale Zusatzraten (ZR oder Bolus) in Form einer Einzeldosis (Abb.:30), die unmittelbar und schnell appliziert wird (Insulinstoß) als Mahlzeitdosis verabreicht. Die Abgabe der Hormondosis in Form einer Zusatzrate ist bei der CPI BETATRONTM II in 1/10 I.E. möglich. Durch die subkutane Hormonzufuhr wird, da das Hormon erst vom abdominalen Fettgewebe aufgenommen werden muß bis es in den Blutkreislauf und zur Wirkung gelangen kann, eine in der Regel geringe Zeitdauer zwischen Bolusabgabe und Nahrungsaufnahme erforderlich. Im allgemeinen beträgt das hierfür notwendige Zeitintervall etwa fünfzehn Minuten. In manchen Fällen kann es jedoch erforderlich werden, die Zeitdauer zu verlängern.

Bei manchen Typ I Diabetikern kann die benötigte basale Insulindosis in Abhängigkeit von der Tageszeit schwanken. In diesen Fällen kann bei der BETATRONTM II eine Alternative Basalrate (ABR) programmiert werden. Die ABR stellt eine Basalrate dar, die das Infusionsdosiergerät als Alternative während eines gegebenen Zeitraums zuführen kann. Bei der BETATRONTM II ist bei der ABR sowohl eine Erhöhung als auch eine Absenkung der Basalrate möglich. Programmierbar sind die Höhe der ABR, der Zeitraum, innerhalb dessen eine alternativen Basalrate zugeführt wird, und eine Verzögerung der ABR, d. h. die Zeitdauer bis zum Einsetzen der ABR. Die Gesamtzahl der Hormoneinheiten, die als Basalrate über vierundzwanzig Stunden und als präprandiale Zusatzraten pro Tag zugeführt wurden, addiert der Mikrocomputer der BETATRONTM II und zeigt diese als Akkumulierte Dosis auf dem Flüssigkristalldisplay an.

(siehe auch Prinzip und Methodik der CSII-Therapie)

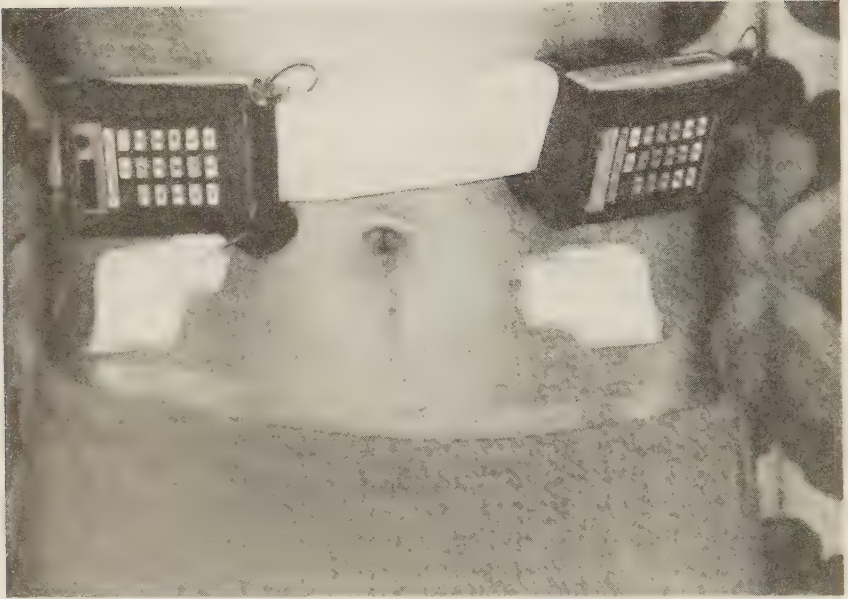


Abb.:30 Infusionsdosiergeräte vor der Bolusabgabe (ZR) während der Testphasen der Studie unter der kontinuierlichen subkutanen Kombinationstherapie (CSI) mit biosynthetischem Humaninsulin (BHI) und biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI).

2.3.3 Sonstiges Material

An sonstigem Material fanden Verwendung:

- Steriler, pyrogenfreier Venenkatheter Abbocath-T, 18G; Venenpunktionsbesteck Butterfly -21, (Abbott, Ireland);
- Sicherheits-Monovettensystem (Sarstedt, Nümbrecht, BRDtl.): 4 ml Monovette mit EDTA di-Kalium; 2 ml mit Fluorid (Gerinnungs- und Glykolysehemmer); 10 ml zur Serumgewinnung;
- eisgekühlte 5 ml Röhrchen, vorbereitet mit 5 Mikroliter Aprotinin (100 mg/ml) und 50 Mikroliter Heparin (5 I.E./ml) für die Glucagon-Bestimmung; Kühleis (Scotsman-Eismaschine);
- Eppendorf-Mikropipetten mit 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 500 und 1000 Mikroliter; Reaktionsgefäße mit 1 und 2 ml (Eppendorf, Hamburg, BRDtl.);
- Dextroenergen^R (Dextrose-Komprimat, Maizena, Heilbronn).

- Laborgeräte:

- Hettich-Kühlzentrifuge (Roto Silenta/K);
- Eppendorf-Zentrifuge (Eppendorf, Hamburg, BRDtl.);
- YSI 23A Glucose-Analyzer (Yellow Springs, Ohio, USA);
- Beckmann Electrolyte 2 Analyzer (Beckmann, Kalif., USA).

- Bestimmungs-Reagenzien: s. Analytik (2.4)

- Daten-Auswertung:

- Hardware:

- PRIME - Großrechneranlage (PRIME, Wiesbaden, BRDtl.);
- SIEMENS 404 - Großrechneranlage (SIEMENS, BRDtl.);
- NOKIA ASC - Computer (NOKIA, Helsinki, Finnland);
- OLIVETTI PC M24 (OLIVETTI, Frankfurt, BRDtl.);
- CASIO COLLEGE FX-100 (CASIO, Tokyo, Japan);
- ESW 3000 K; STARTYPE (OLYMPIA, Wilhelmshaven, BRDtl.);
- HP 7550 A PLOTTER; HP LASER JET (H. PACKARD, Idaho, USA);
- EPSON FX 105 (SEIKO EPSON Corp., Japan).

- Software:

- MS-DOS (Microsoft Corp., USA);
- WORDSTAR^R (MICRO-PRO Intern., München, BRDtl.);
- WORD-PERFECT^R (WORD-PERFECT Corp., Orem, Utah, USA);
- PLOGIST^R Graphik und Graphik Text-Pre-Prozessor (TEWISOFT HÖRMANN, München, BRDtl.);
- PlotIT^R (ICS, Frankfurt, BRDtl.);
- CADSTAR^R (CAD-SYSTEMS, Frankfurt, BRDtl.).

2.4 Analytik

2.4.1 Blut - Glucose

Die Messung der Blutglucose wurde unmittelbar nach der Proben-gewinnung mit einem "Yellow Springs 23A Glucose Analyzer" (YSI, Yellow Springs, Ohio, USA) durchgeführt. Dieses quantitative in vitro Meßgerät besitzt eine hohe Spezifität für die direkte Glucosebestimmung im Vollblut, sowie im Blutplasma und im Blutserum.

Die Meßoperation beruht auf der Konversion von Glucose und Sauerstoff in Gluconsäure und Wasserstoffperoxyd. Der eigentliche Meßsensor, bestehend aus einer Oxydase-Hydrogenperoxyd Membran, wurde im Jahre 1970 von Clark eingeführt (20, 14). An diese Enzymsonde ist eine Anode aus Platin angeschlossen, an der proportional zum entstandenen Wasserstoffsuperoxyd eine elektrische Spannung aufgebaut wird. Die Entwicklung dieser speziellen Meßtechnik erlaubt die direkte digitale Anzeige der Glucosekonzentration. Für die Glucoseanalyse mit dem YSI - 23A Glucose Analyzer ist keine Probenmodifikation erforderlich. Für eine Bestimmung benötigt das Analysegerät eine Probenmenge von fünfundzwanzig Mikroliter. Für die Erfassung dieser Meßreaktion, einschließlich der Anzeige der Meßwertes auf dem digitalen Display, benötigt das Glucosemeßgerät ca. vierzig Sekunden. Das Gerät hat einen primären Meßbereich von 0 bis 500 Milligramm pro Deziliter, jedoch können durch eine Verdünnung der Proben höhere Glucosekonzentrationen auch größer 1000 Milligramm pro Deziliter gemessen werden.

2.4.2 Kalium - Bestimmung

Die quantitative Bestimmung des Elektrolyts Kalium im Serum erfolgte mit einem "Electrolyte 2 Analyzer" nach dem Meßprinzip mit ionenselektiver MeBelektrode für Kaliumionen und wurde gemessen in Millimol pro Liter (Beckmann, Kalifornien, USA). Der angegebene Normbereich für Kalium liegt zwischen 3.8 mmol/l und 5.4 mmol/l.

2.4.3 Hormon - Bestimmungen

2.4.3.1 Serum - Insulin

Die Analyse des Seruminsulins erfolgte radioimmunologisch nach der erstmals von Yalow und Berson 1960 (166) beschriebenen, durch Hales und Randle 1963 (47) mit Doppelantikörpermethode verfeinerten Meßtechnik.

Als Reagenzien wurden verwendet:

- Standard (Humaninsulin-Standard for Radioimmunoassay RD 13, Wellcome Research Laboratories, Beckenham, England);
- Doppel-Antikörper (Insulin Binding Reagent for Radio-Immunoassay RD 12, Wellcome, England);
- Hochgereinigtes 125-Jod markiertes Schweineinsulin (J 5017, Behringwerke, Marburg, BRDtl.)

Die Auftrennung in freies und gesamtes immunoreaktives Serum-Insulin (IRI) wurde nach der modifizierten Methode von Kuzuya 1977 durchgeführt (78). Die Kreuzreaktivität von humanem Proinsulin im RIA für Insulin beträgt ca. vierzig Prozent. Die Maßeinheit für Freies (IRI F) sowie Serum-Gesamtinsulin (IRI T) wird in Mikro-Einheiten pro Milliliter angegeben.

2.4.3.2 Serum - "Proinsulin"

Das Serum - "Proinsulin" wurde indirekt über die Messung des C-Peptids mit dem RIA 100 der Fa. IRE (IRE Diagnostik, Fleurus, Belgien) nach der Methode von Kuzuya et al. 1977 (78, 70) bestimmt, indem humanes Proinsulin eine 30 prozentige Kreuzreaktivität mit dem C-Peptid-Antikörper zeigte. Infolgedessen können die gemessenen Proinsulin-Werte als C-Peptid-Äquivalente, angegeben in Nanogramm pro Milliliter, ausgedrückt werden. Das Testprinzip basiert auf einer kompetitiven Bindung eines Tracers (125-Jod markiertes C-Peptid) und des unbekannten C-Peptids der Serumprobe an den Antikörper. Nach Inkubation der Proben mit dem Tracer erfolgt die Versetzung und Auftrennung mit einer Immunoabsorbent-Lösung. Anschließend wird die gebundene Aktivität der jeweiligen Probe mit einem Gamma-Counter gezählt. Die Probenkonzentration wird an Hand der erstellten Standardkurve ermittelt.

2.4.3.3 Glucagon - Bestimmung

Unmittelbar nach der Probengewinnung wurden fünf Milliliter Blut in ein eisgekühltes speziell präpariertes Röhrchen, vorbereitet mit fünf Mikroliter Aprotinin (100 mg/ml) und fünfzig Mikroliter Heparin (5 I.E./ml) gegeben. Anschließend wurden die Proben in der Kühlzentrifuge zentrifugiert und bei einer Temperatur von minus achtzig Grad Celsius bis zur Bestimmung der Proben aufbewahrt. Das Glucagon wurde nach Äthanolextraktion vom Plasma unter Verwendung eines pankreasspezifischen Antiserums K 5563 (RIA-Kit for Pancreatic Glucagon, Novo Research Institute, Kopenhagen, Dänemark) radioimmunologisch nach der Methode von Heding 1971 gemessen (49). Die Maßeinheit für Glucagon wird in Picogramm pro Milliliter angegeben.

2.4.3.4 Cortisol - Bestimmung

Das Cortisol wurde nach Ansäuerung des Serums auf pH 4.0 auf direkte Weise, d. h. ohne eine Extraktion oder eine Hitzedenaturierung vorher durchzuführen, radioimmunologisch nach der erstmals 1978 von Stalla beschriebenen und 1980 von Stalla optimierten Meßmethode (145, 146) bestimmt (Normbereich 4.0 bis 19.0 Mikrogramm pro Deziliter). In dem Assay erfolgt eine Kreuzreaktivität von circa 85 Prozent mit Cortison.

2.4.3.5 Wachstumshormon - Bestimmung

Die Analyse des humanen Wachstumshormons (HGH) im Serum erfolgte durch einen Radioimmuno-Assay nach einer erstmals 1962 von Utiger et al. (159) beschriebenen und 1975 von v. Werder modifizierten Doppel-Antikörper-Methodik (162), (Maßeinheit in Nanogramm pro Milliliter). Der RIA weist eine Kreuzreaktivität von drei Prozent mit humanem Prolaktin auf.

2.4.3.6 Prolaktin - Bestimmung

Bei der Bestimmung des humanen Prolaktins im Serum fand eine vereinfachte radioimmunologische Kurz-Methodik in Anlehnung an Sinha et al. 1973 (139) und von v. Werder 1975 modifizierten Methode mit einem Doppel-Antikörper Verwendung (162). Für humanes Prolaktin wird ein Normbereich bis 500 Mikro-Units pro Milliliter angegeben. Der Radioimmunoassay erfolgte unter Verwendung eines Kaninchen-Antiserums und 125-Jod-markierten Human-Prolaktins.

2.4.4 Bestimmung der Kontroll - Parameter

2.4.4.1 Analyse der glykosilierten Proteine

2.4.4.1.1 Glykosiliertes Hämoglobin A₁

Für die Bestimmung des glykosilierten Hämoglobin A₁ in seiner stabilen Form als Langzeitindikator des mittleren Blutglucose-spiegels (34, 40, 57, 75), das nach den Ergebnissen mehrerer Arbeitsgruppen eng mit dem HbA_{1c} korreliert (41, 58), wurde das Isolab 'Fast Hemoglobin Test System mit HbA₁ Aldimin Eliminator (Panchem, Kleinwallstadt, Deutschland) in Mikro-säulen-Technik nach Abraham 1978 (1) verwendet.

Das Isolab Test System trennt das Hämolysat von Humanerythrozyten vor der photometrischen Quantifizierung in zwei chromatographische Fraktionen, "schnellwandernde" und "andere Hämoglobine" auf. Die Begriffe "schnellwandernde" Hämoglobine, "fast Hb" und "minor Hb" werden als Hämoglobin A₁-Synonyma angewendet. Die Normalwerte für das glykosilierte Hämoglobin A₁ als die "schnellwandernde" Hämoglobinkonzentration liegen im verwendeten Bestimmungs-Kit im Bereich bis zu 8.0 Prozent.

2.4.4.1.2 Glykosiliertes Albumin

Ähnlich der irreversiblen, nichtenzymatischen Glykosilierung des Hämoglobin erfolgt die kontinuierliche Glykosilierung auch anderer Plasmaproteine (15, 165). Bei Diabetikern wurden erhöhte Spiegel glykosilierter Albumine und glykosilierter Serumproteine gefunden (27, 86, 169, 79).

Da diese Proteine eine schnellere Umsatzrate (turnover) als das Glykohämoglobin haben, geben sie einen Hinweis auf die mittlere Blutglucoseeinstellung der letzten Wochen (27, 86, 169). Eine Veränderung des mittleren Blutglucosespiegels ist aus diesem Grund bei den Fraktionen der glykosilierten Proteine früher zu erkennen, als dies beim Hämoglobin der Fall ist.

Die Bestimmung des glykosilierten Albumins wurde nach der Methode der Affinitätschromatographie in Mikrosäulentechnik (1) mit dem Glyc-AffinTM System, durchgeführt (Reagenzien: Glucose Elimination Kit SG 2500, und Albumin Reagent SG-6108, Isolab Inc. Akron, Ohio, USA, Fa.Pears, BRDtl.). Für das glykosilierte Albumin wird für den verwendeten Bestimmungs-Kit ein Normalbereich von 8.4 bis 15.7 Prozent vom Gesamtprotein genannt (Isolab).

2.4.4.1.3 Glykosiliertes Gesamtprotein

Analog der Glykosilierung der Albumine unterliegen auch die Proteine der anderen Proteinfractionen dem Glykosilierungsprozeß (24, 15, 165). Auf Grund der schnelleren Syntheserate der Proteine im Vergleich zum glykosilierten Hämoglobin ist eine Veränderung der Stoffwechseleinstellung ähnlich den glykosilierten Albuminen früher erkennbar (27, 86, 169).

Das glykosilierte Gesamtprotein wurde in ähnlicher Weise wie das glykosilierte Albumin mit der Mikrosäulen-Affinitätschromatographie mit dem Glyc-AffinTM System bestimmt (verwendete Reagenzien: Glucose Elimination Kit SG-2500 und Protein Reagent Concentrate SG-6107, Isolab Inc. Akron, Ohio, USA, Pears, Deutschland). Der Normalbereich für das glykosilierte Gesamtprotein im verwendeten Kit wird von 8.0 bis 12.9 Prozent vom Gesamtprotein angegeben (Isolab).

2.4.4.2 Antikörper gegen Insulin, Proinsulin, und E. coli

Vor Beginn der Studie, nach Abschluß der stationären Studienphase und bei den ambulanten Kontrolluntersuchungen, ein und drei Monate nach Studienende wurden Proben für die Bestimmung der Antikörper gegen biosynthetisches humanes Proinsulin, Humaninsulin und E. coli gewonnen. Nach anschließender Zentrifugation in der Kühlzentrifuge erfolgte die Lagerung der Proben bei einer Temperatur von minus achtzig Grad Celsius bis zum Versand der Proben. Auf dem Transport wurden die Antikörperproben mit Flüssigeis gekühlt. Ein Teil der Proben wurde zur Bestimmung zu Eli LILLY GmbH, Deutschland und ein anderer Teil per Luftfracht zu Eli LILLY Inc., Indianapolis, USA, versandt.

Die Probenbestimmung der Antikörper gegen humanes Insulin, Proinsulin und gegen E. coli erfolgt gesamt durch die Eli LILLY GmbH, Bad Homburg, BRDtl. und Eli LILLY Inc., Indianapolis, USA.

2.4.4.3 Bestimmung der Rahmen - Parameter

2.4.4.3.1 Analyse des Blutbilds

Die Blutbild-Analyse für die Zählung der Erythrozyten (Ery), der Leukozyten (Leuko) und der Thrombozyten (Thrombo), die Messung des Hämoglobins (Hb) und des Hämatokritwertes (Hkt in Prozent) wurde mit einem Sysmex CC-800 Autocounter durchgeführt. Die Bestimmung erfolgt automatisch nach dem Widerstandsmessprinzip (Sysmex TOA, Colora, BRDtl.). Für die Auszählung des Differentialblutbilds fand als Differential-Blutzell-Zählgerät ein "Leukodiff 600" Verwendung (Instrumentation laboratory, Bornheim, Deutschland).

2.4.4.3.2 Parameter der Serum - Chemie

Die Bestimmung der Kontroll - Laborparameter der Serumchemie, wie Elektrolyte, Harnsäure, Harnstoff, Creatinin, Alkalische Phosphatase, Transaminasen, Gesamteiweiß, Gesamtbilirubin, Cholesterin und Triglyceride erfolgte mit photometrischer Meßmethodik mit einem voll selektiven Mehrfach-Analysensystem, einem Hitachi 705 Analyzer (Hitachi, Japan, Reagenzien der Fa. Boehringer Mannheim, Deutschland). Hierbei erfolgt die Messung diskret, vergleichbar mit der manuellen Arbeitstechnik, d. h. in jedem einzelnen Test wird eine entsprechende Meßküvette verwendet.

Während der Studienperiode wurden nachfolgend aufgeführte Laborparameter der Serumchemie bestimmt (Tab.:14).

Parameter	Abkuerzung	Einheit	Normbereich
Natrium	Na	mval / l	135 - 150
Kalium	K	mval / l	3.8 - 5.4
Calcium	Ca	mval / l	4.3 - 5.3
Phosphat	P	mg / dl	2.5 - 4.8
Creatinin	Cr	mg / dl	0.7 - 1.2
Harnstoff	HN	mg / dl	9.3 - 23.4
Gesamteiweiss	EW	g / dl	6.5 - 8.5
Harnsaure	HS	mg / dl	3.0 - 7.6
Cholesterin	Chol	mg / dl	- 260
Triglyceride	TRI	mg / dl	50 - 200
Bilirubin Ges.	BIL	mg / dl	- 1.1
Aspartat Transam.	GOT	U / l	- 18
Alanin Transamin.	GPT	U / l	- 24
Gemme-Glutamyl-T.	GGT	U / l	- 28
Alk.Phosphatase	APH	U / l	60 - 190

Tab.:14 Kontroll - Laborparameter der Serumchemie mit Angabe des entsprechenden Referenzbereichs.

2.4.4.3.3 Urin - Analysen

Vor Studienbeginn, während der Studie unter Kombinations-
therapie mit BHI und BHPI, sowie nach Abschluß der stationären
Studienphase und bei den ambulanten Kontrolluntersuchungen
nach einem und nach drei Monaten nach Studienende wurde der
Urin qualitativ mittels Urinteststreifen auf Glucose, Eiweiß,
Aceton und pH-Wert analysiert (Nepdur-Test^R und Ketur-Test^R,
Boehringer Mannheim, Deutschland).

Zu den gleichen Kontrollzeitpunkten wurde der Urin zusätzlich
bakteriologisch untersucht. Nach vierundzwanzig Stunden
Inkubation im Brutschrank wurde im Falle eines Bakterien-
wachstums die Harnprobe zur näheren Keimbestimmung dem Max v.
Pettenkofer-Institut zugeführt.

2.5 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der Studienparameter wurden die Resultate als arithmetisches Mittel (MW) $\pm$ Standardabweichung vom Mittelwert (SEM) angegeben (122). Die Mittelwerte der entsprechenden Parameter wurden bei den einzelnen Studienteilnehmern durch die Division der Summe der Einzelbestimmungen durch die Anzahl der Meßwerte, beim Gesamtkollektiv durch die Division der Summe der Patienten-Mittelwerte durch deren jeweilige n-Zahl ermittelt. Zusätzlich wurden die Flächenintegrale unter den Mittelwertskurven (AUC: Area under the curve) berechnet. Die für die jeweiligen Parameter errechneten Mittelwerte bilden die Grundlage für die zur Darstellung gebrachten Kurvengraphiken.

Als Signifikanztest für den Vergleich der Mittelwertstandardkurven der verschiedenen Studien-Parameter wurde der Wilcoxon-Rank-Test für gepaarte Proben verwendet (123).

2.5.1 Kriterien der Stoffwechseleinstellung

Zur Beurteilung der Blutglucoseeinstellung während der einzelnen Studienphasen wurden folgende Kriterien herangezogen:

2.5.1.1 Berechnung der Mittleren Blutglucose

Die Mittlere Blutglucose-Konzentration (MBG) gemessen in Milligramm pro Deziliter, errechnete sich als Mittelwert der einzelnen Blutzuckerwerte in stündlichen Abständen in den Testphasen I und II unter Kombinationstherapie mit BHI und BHPI, und in der Prä- und Postphase unter BHI-Monotherapie als Mittelwert der gemessenen Blutglucosewerte pro Studientag $\pm$ SEM.

2.5.1.2 MAGE - Wert - Berechnung

Die Mittlere Amplitude der Glucose-Schwankung (MAGE - Wert) als Parameter der Stabilität der diabetischen Glucosestoffwechsellaage wurde in Anlehnung an Service et al. 1970 (135) berechnet. Der MAGE - Wert wird in Milligramm pro Deziliter angegeben.

Berücksichtigt werden hierbei ausschließlich die Amplituden der Glucoseschwankungen, nicht jedoch die Verteilung oder die absolute Höhe der jeweiligen Blutzuckerkonzentrationen. Für die Ermittlung der MAGE-Werte werden alle diejenigen Glucoseschwankungen, die größer als eine Standardabweichung sind, einbezogen. Als weiteres Kriterium gehen aber lediglich jene Blutglucose-Schwankungen in die Berechnung ein, die entsprechend der Richtung der ersten Fluktuation entweder alle vom Glucosetiefpunkt zum Glucose-Gipfel (nadir-to-peak) oder umgekehrt (peak-to-nadir) gerichtet sind. Aus der Addition dieser Werte und der anschließenden Division durch die Anzahl der in die Berechnung eingegangenen Werte ergibt sich der MAGE- Wert.

2.5.2 Berechnung der Hormon - Dosen

Die Hormonmenge an appliziertem BHI und BHPI, angegeben in Internationalen Einheiten (I.E.) pro Tag wurde für nachfolgend aufgeführte Einzeldosen berechnet:

- Totale Menge BHI Basal: Menge an infundiertem basalem Insulin in 24 Stunden;
- Totale Menge BHI Zusatz: Menge an appliziertem Insulin, die sich durch Addition der Zusatzraten errechnet;
- Totale Menge BHI Basal plus Zusatz: Dosismenge an BHI, die sich aus der Addition der Basaldosis und der Zusatzratendosis pro Tag zusammensetzt;
- Totale Menge BHPI Basal: Menge an infundiertem basalem Proinsulin in 24 Stunden;
- Totale Menge BHPI Zusatz: Menge an appliziertem BHPI, die sich durch Addition der Zusatzraten errechnet;
- Totale Menge BHPI Basal plus Zusatz: Dosismenge an BHPI, die sich aus der Addition der Basaldosis und der Zusatzratendosis pro Tag zusammensetzt;
- Gesamtmenge BHI plus BHPI: Gesamtdosis an infundierter Gesamthormonmenge, die sich berechnet durch Addition der Gesamthormondosen von BHI plus BHPI;
- Gesamtmenge der Hormondosis an BHI + BHPI zur Abdeckung von 12 Gramm Kohlenhydraten (I.E. pro Tag pro Menge an BE pro Tag): mittlere Hormondosis, die sich aus der Division der Gesamtmenge an BHI bzw. BHI plus BHPI durch die Menge der Kohlenhydrate pro Tag errechnet.

2.5.3 Berechnung der mittleren Hormonwerte

Die Berechnung der nachfolgenden Hormonwerte, ausgedrückt als Mittelwert $\pm$ SEM, wurde durch Division der Summe der Einzelwerte pro Kontrollzeitpunkt durch deren Anzahl errechnet und bildet die Grundlage der dargestellten Kurvengraphiken.

Die Berechnung der mittleren Hormonwerte wurde für nachfolgende Hormone durchgeführt:

- Freies und Serum-Gesamtinsulin (in Mikro-Units pro Milliliter);
- Serum - "Proinsulin" (in Nanogramm pro Milliliter);
- Glucagon (in Picogramm pro Milliliter);
- Cortisol im Serum (in Mikrogramm pro Deziliter);
- Wachstumshormon (in Nanogramm pro Milliliter);
- Prolaktin (in Mikro-Units pro Milliliter).

2.5.4 Berechnung der Kaliumwerte

Die Berechnung des durchschnittlichen Kaliumspiegels im Serum, angegeben in Millimol pro Liter, erfolgte als Mittelwertbestimmung $\pm$ SEM analog den Hormonen.

2.5.5 Berechnung der glykosilierten Proteine

Die Berechnung der Mittelwerte des glykosilierten Hämoglobins A₁ (HbA₁), des glykosilierten Albumins (GSA) sowie des glykosilierten Gesamtproteins (GSP), gemessen in Prozent vom Gesamtprotein, erfolgte durch Division der Gesamtsumme der addierten Einzelwerte durch deren n - Zahl.

2.5.6 Berechnung der Kontroll - Parameter

Die Berechnung der Parameter der Hämatologie und Serumchemie wurde ebenfalls durch Addition der Einzelwerte und anschließende Division durch deren Anzahl als Mittelwertsbestimmung mit Angabe des SEM durchgeführt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Blut - Glucose

3.1.1 Mittlere Blutglucose

Die Mittelwertkurven für die Blutglucosespiegel und die berechneten BG-Phasenmittelwerte (Tab.:15) in den einzelnen vier verschiedenen Studienphasen ergaben keinen signifikanten Unterschied. Ebenso zeigte sich bei der statistischen Auswertung der durchschnittlichen Blutglucosewerte der untersuchten labilen Typ I Diabetiker pro Studientag keine unterschiedliche Signifikanz in den einzelnen Phasen (Abb.:31, 32, 33, 34 und Tab.: 34). Die Flächenintegrale unter den Mittelwertkurven waren in allen Phasen vergleichbar. Dieses Ergebnis wurde erwartet, da der Aufbau des Studienprotokolls in der Art gestaltet war, daß die Patienten in allen Phasen in einer guten und vergleichbaren Stoffwechsellage gehalten wurden.

3.1.1.1 Mittlere Blutglucose pro Studienphase

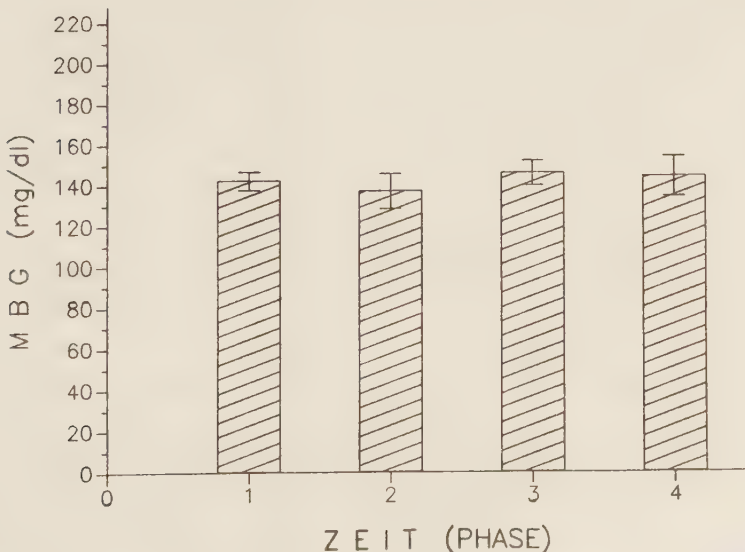


Abb.:31 Mittlere Blutglucose der untersuchten zehn Typ I Diabetiker in den vier verschiedenen Studienphasen.

M B G mg/dl	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10 / 11 / 12
MW	142.4	137.4	146.1	144.3
SD	14.6	26.8	19.1	31.5
SEM	4.6	8.5	6.0	9.9

Tab.:15 Mittlere Blutglucose der zehn Patienten mit labilem Typ I Diabetes mellitus in den vier Studienphasen.

3.1.1.2 Mittlere Blutglucose pro Studientag

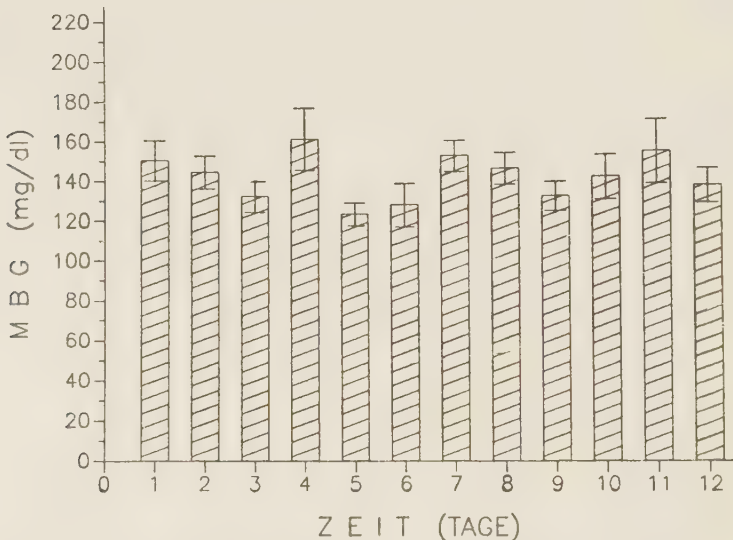


Abb.:32 Mittlere Blutglucose der untersuchten Diabetiker pro Tag in den vier verschiedenen Studienphasen (n=10).

3.1.1.3 Tagesprofile der Mittleren Blutglucose

Die Tagesprofile der durchschnittlichen Blutglucosewerte der zehn Patienten mit IDDM nehmen in der Prä- und Postphase wie auch in der ersten Testphase mit zwanzig Prozent und in der zweiten mit dem auf die Hälfte reduzierten BHPI - Anteil einen vergleichbaren Kurvenverlauf (Abb.:33, Abb.: 34).

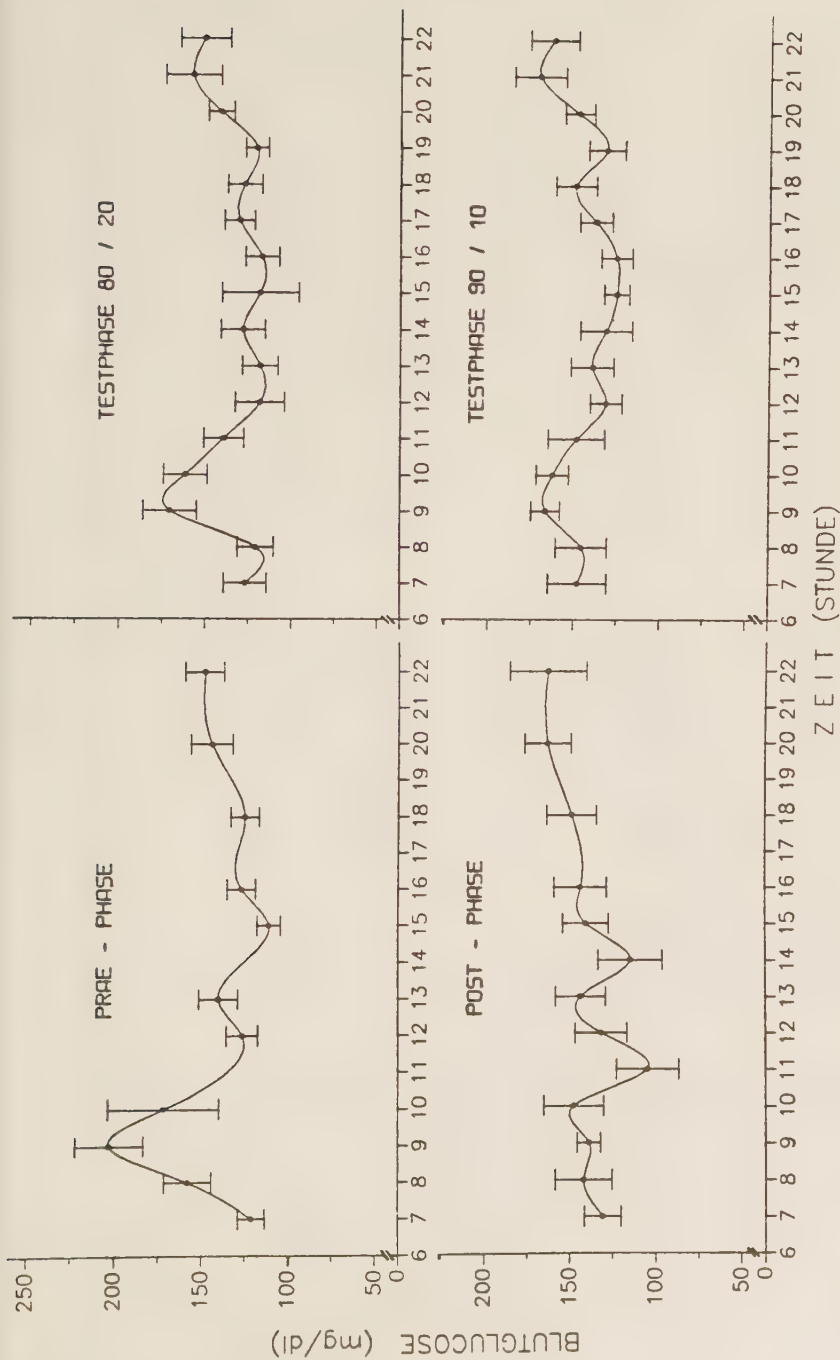


Abb.: 33 Mittlere Blutglucosespiegel der Typ I Diabetiker ($n=10$) während der vier Phasen unter CSII mit BHI allein (Prae- und Postphase) und BHI plus BHPI in einem Verhältnis von 80 : 20 und 90 : 10 basierend auf der Biologischen Aktivität (in I.E.). Jede der vier Studienphasen umfaßt drei Tage.

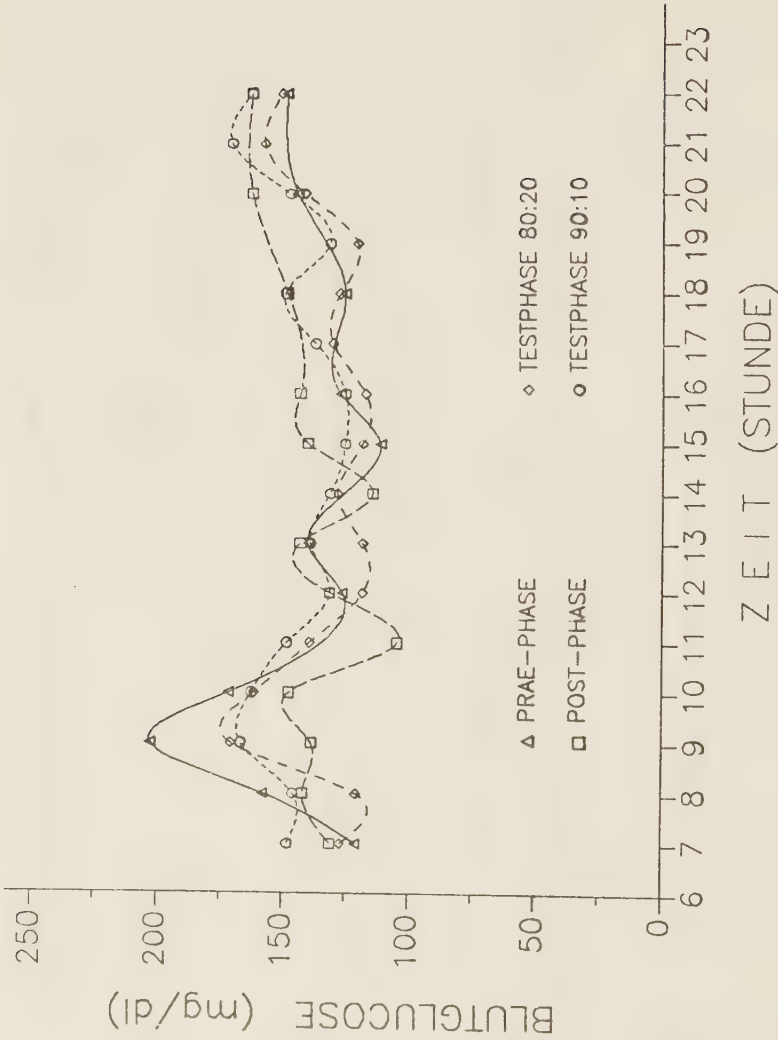


Abb.:34 Tagesprofile der Mittleren Blutglucosespiegel der untersuchten Diabetiker (n=10) in den einzelnen Studienphasen (Kurvenidentifizierung s. verwendete Symbole)

3.1.2 MAGE - Werte

3.1.2.1 MAGE - Werte pro Studienphase

Die Mittlere Amplitude der Glucoseschwankung (MAGE - Wert) als ein Maß für die Stabilität des Glucose-Stoffwechsels ergab bei den zehn Patienten mit Diabetes mellitus Typ I keine signifikanten Unterschiede zwischen der Prä- und Postphase und den Testphasen unter Zugabe von biosynthetischem humanem Proinsulin zu biosynthetischem humanem Insulin (Abb.:35 und Tab.:16 und Tab.:35).

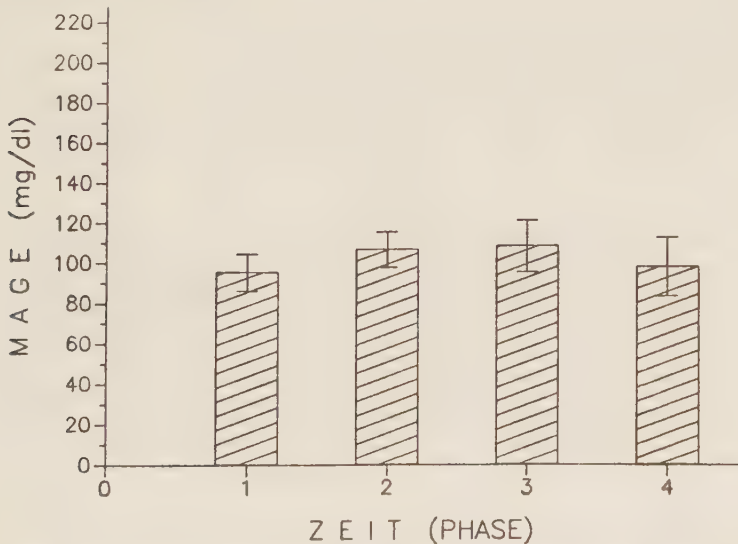


Abb.:35 Mittlere Amplitude der Glucoseschwankung (MAGE) der zehn labilen Typ I Diabetiker in den vier Studienphasen (1=Präphase, 2=Testphase 80/20, 3=Testphase 90/10 BHI : BHPI und 4=Postphase).

MAGE mg/dl	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	95.5	107.1	108.8	98.2
SD	29.1	28.4	41.2	46.4
SEM	9.2	9.0	13.0	14.7

Tab.:16 Mittlere MAGE - Werte der zehn Diabetiker in den einzelnen vier Studienphasen.

3.1.2.2 MAGE - Werte pro Studientag

Die statistische Auswertung der einzelnen Tage in den vier unterschiedlichen Phasen der Studie zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede der MAGE - Werte zwischen einer Insulin-Monotherapie und einer Kombinationstherapie mit zwanzig oder zehn Prozent BHPI-Zugabe zum Insulin (Abb.:36).

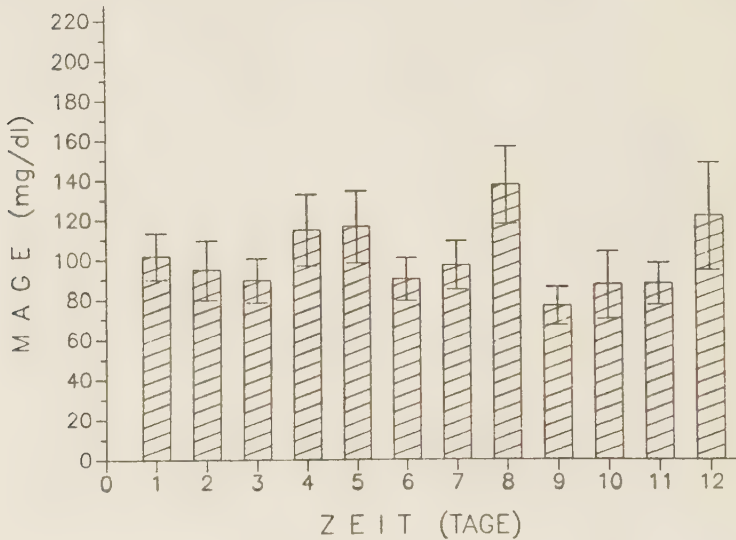


Abb.:36 Mittlere Amplitude der Glucoseschwankung (MAGE) pro Tag in den vier unterschiedlichen Studienphasen, (Tag 1-3 = Prä-Phase; Tag 4-6 = Test-Phase 80/20; Tag 7-9 = Test-Phase 90/10; Tag 10-12 = Post-Phase).

3.1.3 Hypoglykämie - Ereignisse

Die Anzahl der Blutglucosemessungen während der Nacht bei Verdacht auf eine Hypoglykämie oder auf Grund von Problemen bei der Glucoseeinstellung unterschied sich nicht in den vier Perioden unter der kontinuierlichen Infusionstherapie mit BHI allein gegenüber der Kombinationstherapie mit BHI und BHPI in den Testphasen. Die Anzahl der einzelnen Blutglucosewerte, die sich unter fünfzig Milligramm pro Deziliter befanden, waren in der Präphase und in der Testphase I von Tag vier bis sechs mit zwanzig Prozent BHPI und achtzig Prozent an BHI vergleichbar (Tab.:17). In der zweiten Testphase, die sich vom siebten bis zum neunten Tag erstreckte, mit zehn Prozent BHPI-Anteil stieg die Anzahl der Hypoglykämie-Ereignisse auf acht an und ging in der sich anschließenden Postphase (Tag zehn bis zwölf) auf insgesamt vier dokumentierte Ereignisse zurück (Tab.:17).

STUDIENPHASE	ANZAHL	SCHWEREGRAD
PRAEPHASE	3	3 × 1
TEST-PHASE 80/20	3	2 × 1, 1 × 0
TEST-PHASE 90/10	8	1 × 2, 2 × 1, 5 × 0
POST-PHASE	4	1 × 2, 3 × 1

Tab.:17 Hypoglykämie-Ereignisse in den Studienphasen.

Definition der Schweregrade:

- Grad 0: Hypoglykämie ohne klinische Symptomatik (BG unter 50 mg/dl);
- Grad 1: Hypoglykämie mit klinischer Symptomatik (BG unter 50 mg/dl und Symptome);
- Grad 2: Hypoglykämie mit deutlicher klinischer Symptomatik (BG unter 50 mg/dl mit ausgeprägten Symptomen);
- Grad 3: schwere Hypoglykämie mit Bewußtlosigkeit (BG unter 40 mg/dl).

Die Hypoglykämie-Ereignisse der untersuchten Typ I Diabetiker werden in nachfolgender Übersicht detailliert pro Testphase und Studientag dargestellt (Tab.:18). Weder in der Prä- und Postphase noch in einer der beiden Testphasen unter der Kombinationstherapie mit BHI plus BHPI trat bei einem der Patienten mit IDDM eine Hypoglykämie schweren Ausmaßes oder gar mit Bewußtseinsverlust auf.

M B G mg/dl	PRAEPHASE	TEST-PHASE 80/20	TEST-PHASE 90/10	POST-PHASE
TESTTAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10 /11 /12
PAT.WP				
PAT.EK	47 (1)	45 (9)	49 39 (14)(11)	48 (6)
PAT.WZ				
PAT.ST	49 (15)		38 (16)	
PAT.AB	41 (11)		47 (18)	37 (13)
PAT.UZ				47 (11)
PAT.MB		40 (21)	42 45 (3)(23)	48 (11)
PAT.HB				
PAT.NM		47 (12)	49 48 (3) (1)	
PAT.KD				

Tab.:18 Hypoglykämie - Ereignisse der untersuchten labilen Typ I Diabetiker pro Studientag (detailliert);

Werte ohne Klammern zeigen die Blutglucosewerte in mg/dl (): die Klammerwerte markieren die Meßzeitpunkte (0-24 Uhr).

3.2 Hormon - Dosen

3.2.1 Insulin - Dosis

3.2.1.1 Dosismenge an basalem BHI

Die in der Prä- und Postphase applizierte durchschnittliche Menge an basalem BHI unterschied sich signifikant von den in den Testphasen gegebenen BHI-Basaldosen (Tab.:19 und Tab.:36).

BHI BR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	18.3	14.7**	15.7**	16.5 ++
SD	5.7	5.3	5.3	4.7
SEM	1.0	1.0	1.0	1.0

Tab.:19 Mittlere tägliche Dosismenge an basalem BHI der zehn labilen Typ I Diabetiker in den vier Studienphasen;

: signifikant gegenüber der Praephase (p = < 0.05,

** p = < 0.01);

+: signifikant gegenüber der Testphase I (+ p = < 0.05,

++ p = < 0.01).

3.2.1.2 Dosismenge und Anzahl der BHI-Zusatzraten

Die in der Testphase II und der Postphase applizierte Menge der BHI-Zusatzraten unterschied sich signifikant von den in der ersten Testphase gegebenen BHI-Mahlzeitdosen (Tab.:20,37).

BHI ZR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	23.1	20.9	24.5++	24.3 +
SD	8.1	7.1	7.4	7.2
SEM	1.5	1.3	1.4	1.5

Tab.:20 Mittlere Menge der BHI-Zusatzraten pro Tag der zehn labilen Typ I Diabetiker in den vier Studienphasen;

+: signifikant gegenüber der Testphase I (+ p = < 0.05,

++ p = < 0.01).

Die mittlere Anzahl der gegebenen BHI-Zusatzraten in den vier Studienphasen zeigte keinen signifikanten Unterschied (Tab.:21 und Tab.:38).

ANZAHL BHI-ZR	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	5.7	6.1	6.4	5.3
SD	0.7	0.8	0.9	0.7
SEM	0.2	0.2	0.3	0.2

Tab.:21 Mittlere Anzahl der täglichen BHI-Zusatzraten der zehn labilen Typ I Diabetiker in den vier Studienphasen.

3.2.1.3 Dosismenge an BHI-Basal- plus Zusatzraten

Die in den beiden Testphasen applizierte Dosismenge an BHI-Basal- und Zusatzraten unterschied sich ebenfalls signifikant von den in der Prä- und Postphase gegebenen BHI - Gesamtdosen (Tab.:22 und 39).

BHI BR+ZR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	41.4	35.6**	40.2++	40.8 ++
SD	12.7	11.5	11.6	11.1
SEM	2.3	2.1	2.2	2.3

Tab.:22 Mittlere tägliche Dosismenge der BHI-Basal- und -Zusatzraten der zehn Patienten mit Typ I Diabetes mellitus in den vier Studienphasen;

- *: signifikant gegenüber der Praephase (* p = < 0.05, ** p = < 0.01);
- +: signifikant gegenüber der Testphase I (+ p = < 0.05, ++ p = < 0.01).

3.2.2 Proinsulin - Dosis

3.2.2.1 Dosismenge an BHPI-Basal- und -Zusatzraten

Die in der Kombinationsphase mit zehn Prozent infundierter Dosismenge an BHPI-Basal- und -Zusatzraten zeigte einen signifikanten Unterschied im Vergleich zur BHPI-Menge der Testphase I mit zwanzig Prozent gegebenen BHPI (Tab.:23 und Tab.:40a und 40b).

BHPI	BASALRATE		ZUSATZRATE	
(I.E.)	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10
TAG	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9
MW	3.7	1.7 ++	5.2	2.6 ++
SD	1.4	0.5	1.8	0.7
SEM	0.3	0.1	0.3	0.1

Tab.:23 Mittlere tägliche Dosismenge der BHPI Basal- und Zusatzraten der zehn labilen Typ I Diabetiker in den Test-Phasen;

+: signifikant gegenüber der Testphase I (+ p = < 0.05,
++ p = < 0.01).

3.2.2.2 Anzahl der BHPI-Zusatzraten und Dosismenge an BHPI-Basal- plus -Zusatzraten

Die Anzahl der in den Testphasen applizierten BHPI-Zusatzraten unterschied sich nicht signifikant voneinander. Die Dosismenge der BHPI-Basal- und Zusatzraten in der Kombinationstherapie mit zehn Prozent Anteil an BHPI zeigte im Vergleich zur Testphase I mit zwanzig Prozent BHPI zu achtzig Prozent BHI einen signifikanten Unterschied (Tab.:24 sowie Tab.:41a und 41b).

BHPI	ANZAHL ZR		B R + Z R (I.E.)	
PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10
TAG	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9
MW	6.1	6.3	8.9	4.3 ++
SD	0.8	0.7	2.9	1.2
SEM	0.2	0.2	0.5	0.2

Tab.:24 Anzahl der BHPI - Zusatzraten und Dosismenge der BHPI-Basal- und -Zusatzraten der zehn labilen Typ I Diabetiker in den Testphasen;

+: signifikant gegenüber der Testphase I (+ p = < 0.05, ++ p = < 0.01).

3.2.3 Gesamtmenge an Insulin plus Proinsulin

Die Gesamtmenge an gegebenem BHI, die zur Nivellierung des Glucosestoffwechsels erforderlich war, konnte durch die begleitende Zugabe von BHPI verringert werden (Tab.:25 und 42).

Die Reduktion in der BHI - Dosis äußerte sich hauptsächlich bei den infundierten Basalraten (BR und ABR), weniger bei den präprandial applizierten Boli (ZR oder MD) zu den Mahlzeiten.

BHI+BHPI (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	41.4	44.5	44.5	40.8
SD	12.7	14.4	12.7	11.1
SEM	2.3	2.6	2.4	2.3

Tab.:25 Gesamtmenge an infundiertem BHI und BHPI der zehn untersuchten Diabetiker in den jeweiligen Phasen der Studienperiode.

Die Gesamthormonmenge, auf der Basis der blutzuckersenkenden Wirkung (in I.E.), an s.c. infundiertem biosynthetischem Humaninsulin (BHI) und biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) in den beiden Testperioden mit unterschiedlichen Prozentanteilen an appliziertem BHPI, zeigte keinen signifikanten Unterschied zu der Gesamtmenge an applizierter BHI-Dosis, die in der Prä- und Postphase der Studie unter einer Monotherapie mit BHI verabreicht wurde (Abb.:37).

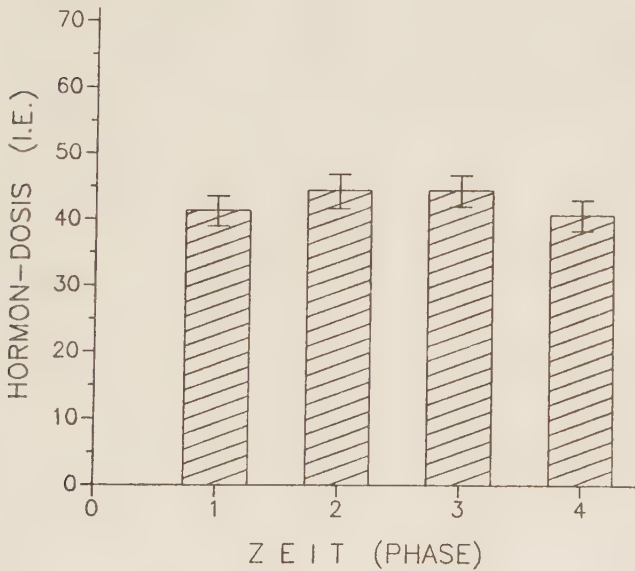


Abb.:37 Mittlere Gesamtmenge an s.c. applizierter Hormondosis an BHI in der 1=Prä- und 4=Postphase und BHI plus BHPI während den Testphasen unter einer Kombinationstherapie mit 2=20 oder 3=10 Prozent BHPI-Zugabe auf der Basis der biologischen Aktivität, angegeben in I.E. (n=10).

3.3 Kohlenhydrate

3.3.1 Summe der Kohlenhydrate

Die Summe der in den Testphasen unter Kombinationstherapie mit BHI und BHPI gegebenen täglichen Kohlenhydratmenge (KH angegeben in BE) unterschied sich nicht signifikant gegenüber der KH-Gesamtsumme in der Prä- und Postphase der Studie unter alleiniger Gabe von BHI (Tab.:26 und Tab.:43).

SUMME KH (BE/Tag)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	19.8	20.4	20.0	20.0
SD	4.9	5.9	5.3	5.3
SEM	1.5	1.9	1.7	1.7

Tab.:26 Mittlere Summe der Kohlenhydrate (KH) pro Tag der zehn labilen Typ I Diabetiker in den einzelnen Studienphasen (in Broteinheiten (BE) pro Tag).

3.3.2 Anzahl der Mahlzeiten

Die mittlere Anzahl der Mahlzeiten pro Tag in den vier Phasen der Studie wies keine signifikanten Unterschiede auf (Tab.:27 und 44).

ANZAHL MZ	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	6.3	6.5	6.2	6.1
SD	0.7	0.5	0.6	0.4
SEM	0.2	0.2	0.2	0.1

Tab.:27 Mittlere Anzahl der Mahlzeiten (MZ) pro Tag der untersuchten Diabetiker (n=10) in der vier Phasen der Studie.

3.3.3 Hormondosis zur Kohlenhydrat - Abdeckung

Die für zwölf Gramm Kohlenhydrate erforderliche Dosismenge in Hormoneinheiten wurde folgendermaßen berechnet:

- Gesamtmenge an BHI pro Tag zur Abdeckung von zwölf Gramm Kohlenhydraten (I.E. pro 1 BE) in der Prä- und Postphase;
- Gesamtdosis an BHI plus BHPI pro Tag zur Abdeckung von zwölf Gramm Kohlenhydraten (I.E. pro 1 BE) in den beiden Testphasen unter Kombinationstherapie.

Die mittlere Hormondosis an BHI bzw. BHI plus BHPI pro Tag, angegeben in Internationalen Einheiten (I.E.), die zur Bedarfsdeckung von zwölf Gramm Kohlenhydraten (KH angegeben in Broteinheiten) notwendig war, zeigte in den beiden Testphasen unter subkutaner Kombinationstherapie mit BHI und BHPI keinen signifikanten Unterschied gegenüber der unter einer Insulin-Monotherapie in der Prä- und Postphase der Studie applizierten Dosismenge (Tab.:28 und Tab.:45).

BHI oder BHI + BHPI pro 12 Gramm Kohlenhydrate				
I.E./BE pro Tag	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
MW	2.2	2.4	2.4	1.9
SD	0.8	1.1	0.9	0.6
SEM	0.3	0.3	0.3	0.2

Tab.:28 Mittlere Dosismenge an infundiertem BHI bzw. BHI plus BHPI pro zwölf Gramm Kohlenhydraten (KH), angegeben in I.E. pro BE pro Tag der zehn labilen Typ I Diabetiker in den jeweiligen Phasen der Studie.

Die Anzahl der präprandialen Bolus - Injektionen (ZR oder MD) pro Tag und die durchschnittlich erforderliche BHI- oder BHPI Dosis, die erforderlich war, um zwölf Gramm Kohlenhydrate (KH), entsprechend einer Broteinheit (eine BE entspricht fünfzig Kilokalorien) abzudecken, erschien in allen Studienphasen vergleichbar.

3.4 Hormon-Bestimmungen

Während der Testphasen unter CSII-Kombinationstherapie mit BHI und BHPI, erfolgte sechsmal täglich die Probenahme für die im folgenden genannten Hormone.

3.4.1 Serum - Insulin

3.4.1.1 Freies Serum - Insulin

In der Testphase I mit zwanzig Prozent BHPI - Zugabe waren die gemessenen Werte für freies Seruminulin verglichen mit der Testphase II mit zehn Prozent BHPI-Anteil höher und erreichten zu nahezu allen Zeitpunkten einen signifikanten Unterschied. Ebenso war die Gesamtmenge an freiem Insulin (IRI F) unter den Zeitkonzentrationskurven in der ersten Testphase größer als dies in der Testphase II der Studie der Fall war (Abb.:38a und Tab.:46). Dies ist zum einen zurückführbar auf die Kreuzreaktivität von humanem Proinsulin im Insulin-Radioimmunoassay und zum andern auf die relativ große Dosismenge an s.c. infundiertem humanem Proinsulin, die notwendig ist, um eine äquivalente blutglucosesenkende Wirkung wie Insulin zu erreichen (s. Methodik).

3.4.1.2 Serum - Gesamtinsulin

Ähnlich dem freien Insulin (IRI F) im Serum stellt sich der Werteverlauf des Gesamtinsulins (IRI T) dar. Auch hier lagen die Werte in der zweiten Test-Phase mit zehn Prozent BHPI-Anteil im Vergleich zur Testphase mit zwanzig Prozent Proinsulin-Zugabe deutlich niedriger und ergaben eine unterschiedliche Signifikanz zu den meisten Meßzeitpunkten (Abb.: 38b und Tab.:46). Entsprechend resultierte auch eine größere Menge an Gesamtinsulin unter den Zeit-Konzentrationskurven in der Kombinationstherapie mit zwanzig Prozent BHPI und achtzig Prozent BHI verglichen mit der Testphase mit zehn Prozent BHPI-Zugabe zu neunzig Prozent BHI. Wie bereits beim freien Serum-Insulin erwähnt, ist dies beim Gesamtinsulin gleichfalls auf eine Proinsulin-Kreuzreaktivität im Insulinassay und die verhältnismäßig große Hormonmenge an appliziertem BHPI zurückzuführen.

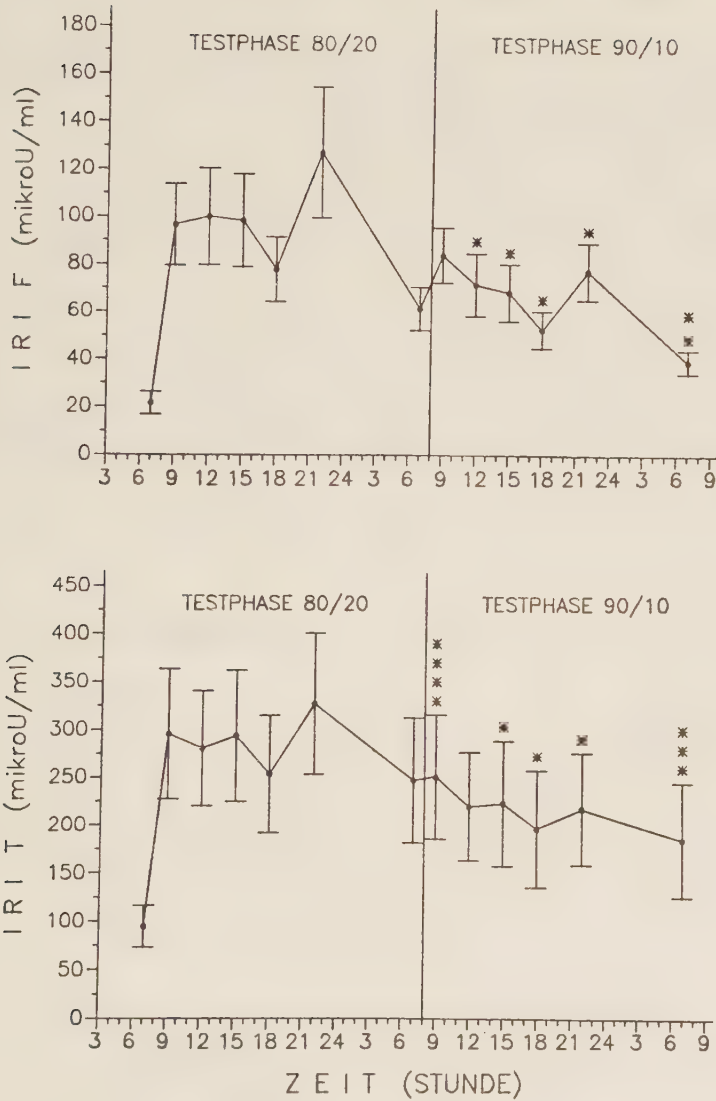


Abb.:38a, b

Freies (IRI F) und Serum-Gesamtinsulin (IRI T) der untersuchten labilen Typ I Diabetiker in den Testphasen unter Kombinationstherapie mit BHI und BHPI (n=10; * p = < 0.01; ** p = < 0.02; *** p = < 0.04; **** p = < 0.05).

3.4.2 Serum - "Proinsulin"

Auf Grund der bestehenden Kreuzreaktivität von humanem Proinsulin mit dem C-Peptid-Antikörper konnte Proinsulin als C-Peptid-Äquivalent gemessen werden.

Es konnte gezeigt werden, daß biosynthetisches humanes Proinsulin aus dem subkutanen Fettgewebe des ventralen Abdomens absorbiert wird und daß BHPI bereits nach einer Zeitdauer von durchschnittlich zwei Stunden nach Beginn der kontinuierlichen subkutanen Zufuhr unter der Therapieform der CSI ein Plateau erreicht. Wie erwartet lagen die auftretenden "Proinsulin"-Spiegel in der Testphase I mit zwanzig Prozent appliziertem Proinsulin im Vergleich zur Test-Phase mit zehn Prozent Proinsulin - Anteil signifikant höher (Abb.:39 und Tab.:46).

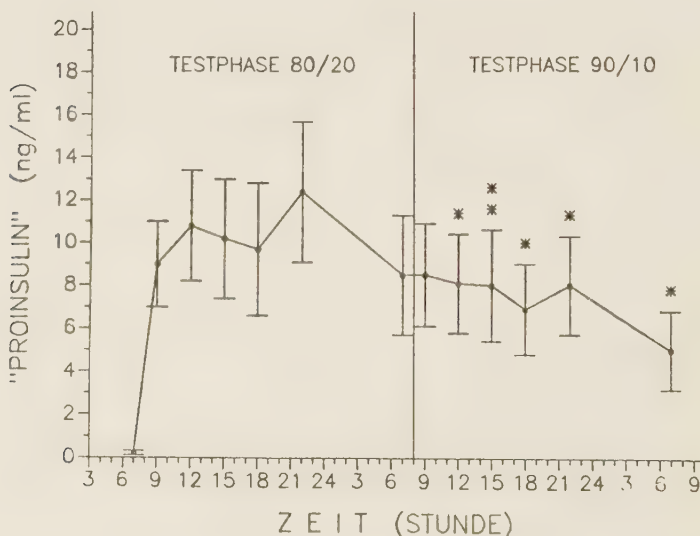


Abb.:39

Serum - "Proinsulinspiegel" der zehn Patienten mit IDDM in den Testphasen unter Kombinationstherapie mit BHI und BHPI (Verhältnis BHI : BHPI in Testphase I: 80/20 und in Testphase II: 90/10 Prozent; *p = < 0.01; **p = < 0.02).

3.4.3 Glucagon

Die zu den Kontrollzeitpunkten gemessenen Glucagon-Spiegel im Plasma und die Gesamtmenge dieses gegenregulatorischen Hormons zeigten keine wesentlichen Unterschiede in den beiden Testphasen unter der CSII-Kombinationstherapie mit zwanzig Prozent BHPI und achtzig Prozent BHI verglichen mit der Testphase mit nur zehn Prozent Proinsulin-Zugabe zu neunzig Prozent Insulin (Abb.:40a und Tab.:46).

3.4.4 Cortisol

Beim Cortisol verlief die Freisetzung unter der Kombinations-therapie mit zwanzig Prozent BHPI in der ersten Testperiode, sowie mit zehn Prozent Anteil an biosynthetischem humanem Proinsulin in der zweiten Testphase sehr ähnlich und zeigte keinen signifikanten Unterschied im Kurvenverlauf (Abb.:40b und Tab.:46).

3.4.5 Wachstumshormon

Die Gesamtmenge der Ausschüttung an humanem Wachstumshormon (HGH) erschien in der ersten Testphase mit zwanzig Prozent BHPI ebenso wie in der zweiten Testphase mit der um fünfzig Prozent reduzierten BHPI-Dosis unter kontinuierlicher s.c. Kombinationstherapie mit BHI und BHPI in nur geringem Ausmaß different (Abb.:41a und Tab.:46).

3.4.6 Prolaktin

Das Prolaktin - Tagesprofil zeigte weder in der ersten Testphase mit zwanzig Prozent gegebenem BHPI noch in der Phase II mit zehn Prozent Proinsulin-Zugabe einen unterschiedlichen Kurvenverlauf und ergab wie die vorgenannten gegenregulatorischen Hormone keine unterschiedliche Signifikanz (Abb.:41b und Tab.:46).

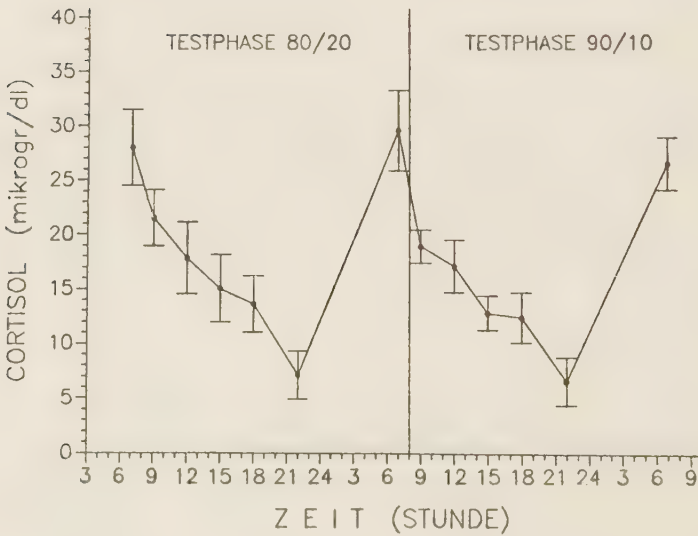
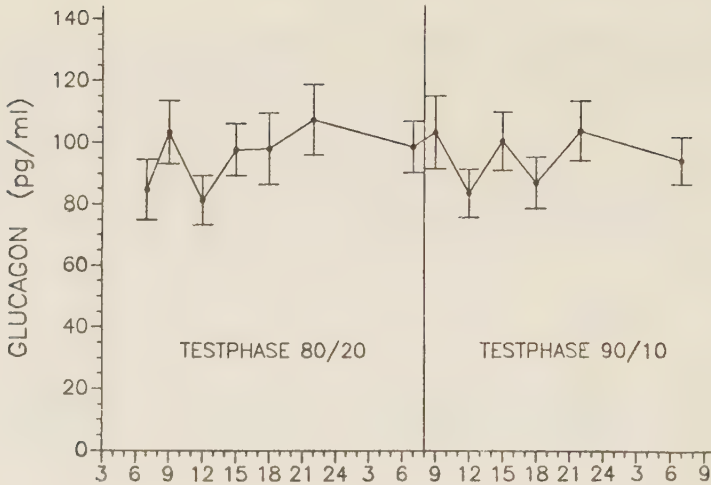


Abb.:40a, b

Mittlere Glucagon- und Cortisolspiegel der Typ I Diabetiker unter den Testphasen mit BHI/BHPI Kombinationstherapie mit 80/20 und 90/10 % BHI : BHPI - Verhältnis (n=10).

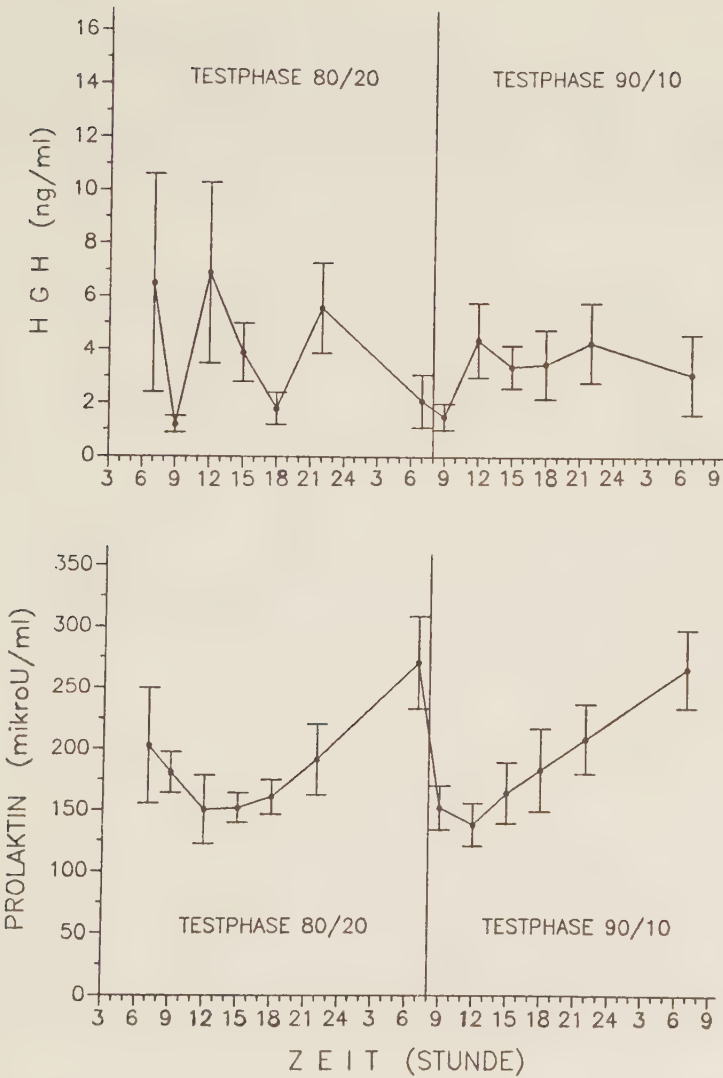


Abb.:41a, b

Mittlere Serumspiegel an humanem Wachstumshormon (GH) und Prolaktin der untersuchten Diabetiker (n=10) in den Testphasen unter BHI/BHPI-Kombinationstherapie mit 80/20 und 90/10 Prozent BHI : BHPI - Verhältnis.

3.5 Kalium

Auch die gemessenen Serumspiegel des Elektrolyts Kalium veränderten sich nicht bei den zehn untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus Typ I während der anteilmäßig verschieden zugegebenen Proinsulinmengen in den beiden Testphasen unter Kombinationstherapie mit s.c. Applikation von BHI und BHPI (Abb.:42 und Tab.:46).

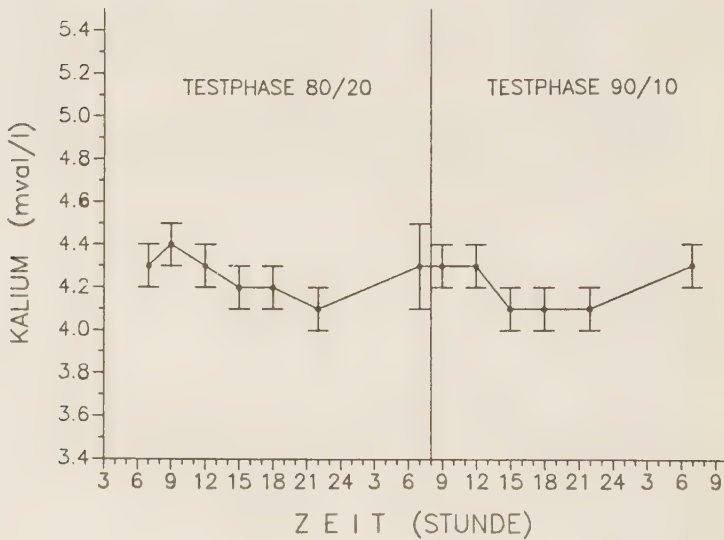


Abb.:42

Mittlere Kaliumspiegel der untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus Typ I (n=10) in den Testphasen unter BHI/BHPI-Kombinationstherapie mit 80/20 und 90/10 Prozent BHI : BHPI - Verhältnis.

3.6 Kontroll - Parameter

3.6.1 Glykosiliertes Hämoglobin A₁

Nach der Kombinationstherapie mit BHI und BHPI erreichte das stabile glykosilierte Hämoglobin A₁ (HbA₁) nach der zweiten Testphase und in der Postphase ein Monat nach Studienabschluß signifikant niedrigere Werte (Abb.:43a).

Bei der Kontrolle nach drei Monaten nach Beendigung der Studie zeigte der mittlere Wert des Glyko-Hämoglobins A₁ bei den zehn untersuchten Patienten mit labilem Typ I Diabetes mellitus einen Anstieg, der über den durchschnittlichen Ausgangswert vor Studienbeginn hinausreichte.

3.6.2 Glykosiliertes Albumin

Das glykosilierte Albumin (GSA) wies nach der BHI/BHPI-Kombinationstherapie nach Abschluß der Studie einen nur geringen Abfall auf (Abb.:43b). Bei der ambulanten Kontrolluntersuchung drei Monate nach Abschluß der stationären Studie war ebenso wie beim glykosilierten Hämoglobin A₁ ein Anstieg über das Anfangsniveau vor Studienbeginn hinaus zu verzeichnen.

3.6.3 Glykosiliertes Gesamtprotein

Entsprechend verhielt sich auch das glykosilierte Gesamtprotein (GSP). Auch hierbei erfolgte nach der kombinierten kontinuierlichen BHI/BHPI-Infusionstherapie ein geringfügiger Abfall. Bei den späteren Ambulanzkontrollen fand sich ein deutlicher Anstieg des glykosilierten Gesamtproteins, der ebenfalls den Ausgangswert überragte (Abb.:43c).

Dieser Anstieg bei den glykosilierten Proteinen nach einem und nach drei Monaten nach Beendigung der stationären Studienzeit spiegelt eine weniger straffe Stoffwechselkontrolle unter ambulanter weniger aggressiv durchgeführter Insulinbehandlung wieder.

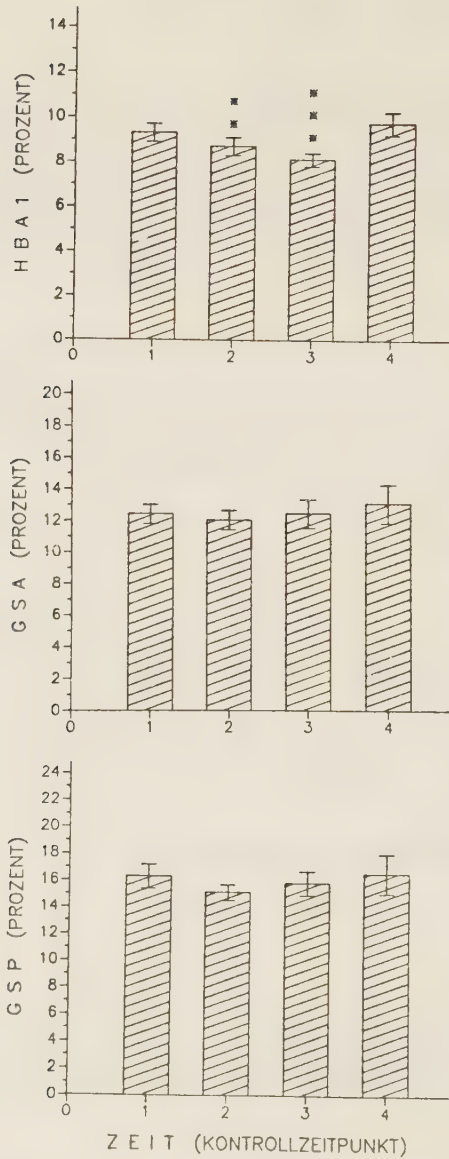


Abb.:43a, b, c

Mittleres Glyko-Hämoglobin A₁ (HbA₁), mittleres glykosiliertes Albumin (GSA) und mittleres glykosiliertes Gesamtprotein (GSP) der zehn Patienten mit labilem IDDM (Kontrollzeitpunkte: 1=vor BHPI, 2=nach BHPI, 3=1 Monat und 4=3 Monate nach Ende der stationären Studie; ** p = < 0.01; *** p = < 0.001).

3.6.4 Verträglichkeit von BHPI

Die lokale Verträglichkeit von subkutan appliziertem biosynthetischem humanem Proinsulin war in beiden Testphasen gut und ernsthafte Nebenwirkungen traten unter der subkutanen Verabreichung nicht auf. Bis auf wenige geringe lokale Reizerscheinungen in Form leichter Hautrötungen, Juckreiz und geringer subkutaner Hautinfiltrate konnten bei keinem der Patienten mit Diabetes mellitus Typ I unter der kontinuierlichen s.c. Infusionstherapie von BHPI nennenswerte Unverträglichkeitserscheinungen beobachtet werden (Tab.:29). Durch konstante Beibehaltung der gleichen Abdominalseite für die Insertionsregion des s.c. Infusionskatheters für BHI und BHPI war die Zuordnung eventueller Spätreaktionen für beide Substanzen einwandfrei möglich.

ANZAHL REAKTION	PRAEPHASE			TESTPHASE 80/20			TESTPHASE 90/10			POSTPHASE		
TESTTAG	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BHPI (+) + ++				2 3	3 4	4	1 3 1	3 1 1	3 1			
BHI (+) + ++	2	3	3	1 1	3 1	2	1	1	1 1	3	1 1	1 2 1

Tab.:29 Anzahl der einzelnen Reaktionen auf die subkutane Applikation von BHPI in den Testphasen und BHI in den vier Studienphasen (Symbole s. Definition).

Definition der Symbole:

- : keine Rötung, kein Juckreiz, kein Druckschmerz (DS), kein Infiltrat (reizlos, keine Reaktion);
- (+): geringe Rötung, leichter Juckreiz, kein DS, keine Infiltratbildung (schwache Reaktion);
- + : Rötung, Juckreiz, geringer DS, Infiltrat bis ca. 0.5 cm im Durchmesser (mäßige Reaktion);
- ++: Rötung, ausgeprägter Juckreiz, deutlicher DS, Infiltrat größer als 0.5 cm im Durchmesser (deutliche Reaktion);
- +++ : starke Rötung, ausgeprägter Juckreiz und DS, Infiltrat größer als 1 cm im Durchmesser (heftige Reaktion).

Als Reaktionen bei den untersuchten Typ I Diabetikern unter der kontinuierlichen subkutanen Zufuhr von biosynthetischem humanem Proinsulin in den beiden Testphasen und biosynthetischem Humaninsulin in allen Studienphasen traten jeweils nur geringe lokale Reizerscheinungen auf (Tab.:30).

REAKTION		PRAEPHASE			TESTPHASE 80/20			TESTPHASE 90/10			POSTPHASE		
PAT.	TAG	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
WP	BHI	-	(+)	-	-	+	(+)	-	(+)	-			
	BHPI				+	+	+	+	(+)	-			
EK	BHI	-	-	-	(+)	-	-	-	-	+			
	BHPI				(+)	+	-	-	+	+			
WZ	BHI	-	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-
	BHPI				-	-	+	-	(+)	(+)			
ST	BHI	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	(+)	+
	BHPI				-	(+)	+	++	-	-			
AB	BHI	-	-	-	-	(+)	-	-	-		-	+	++
	BHPI				-	(+)	+	+	++				
UZ	BHI	(+)	-	(+)	+	(+)	(+)	-	-	-	-	-	(+)
	BHPI				+	+	-	+	(+)	-			
MB	BHI	(+)	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-
	BHPI				+	+	-	(+)	-	(+)			
HB	BHI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BHPI				(+)	-	-	-	-	-			
NM	BHI	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BHPI				-	(+)	-	-	-	-			
KD	BHI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-
	BHPI				-	-	-	-	-	(+)			

Tab.:30 Reaktionen auf die subkutane Applikation von BHPI in den Testphasen und BHI in den vier Studienphasen pro Patient (s. Definition der Symbole).

Die aufgetretenen Reizerscheinungen waren in etwa gleichem Umfang an den s. c. Insertionsstellen für BHPI wie für BHI festzustellen. Da die Reizerscheinungen in nur geringem Maß auftraten, wurde um Vergleichbarkeit zu gewährleisten, bei keinem der zehn an der Studie teilnehmenden Patienten mit IDDM ein Wechsel des Infusionssystems mit Metallnadel gegen ein Infusionssystem mit einer Teflonkanüle vorgenommen.

3.6.5 Antikörper gegen Insulin, Proinsulin und E.coli

Da das mittels Gentechnologie durch DNA-Neukombination synthetisierte biosynthetische humane Proinsulin, wie Aminosäuren-Vergleichsanalysen ergeben haben (32), mit dem pankreatischen humanen Proinsulin identisch ist und einen hohen Reinigungsgrad aufweist, ist eine starke Bildung von Antikörpern weniger wahrscheinlich. Nachdem die speziesspezifischen Unterschiede in der Primärstruktur des C-Peptidanteils des Proinsulinmoleküls liegen (118), kann daraus gefolgert werden, daß eine Antikörperbildung gegen BHPI in lediglich geringem Umfang stattfindet.

Nach den bislang vorliegenden Ergebnissen erfolgt nur eine kaum nennenswerte Antikörperbildung gegen biosynthetisches Humaninsulin (BHI), ebenso gegen biosynthetisches humanes Proinsulin (BHPI) und gegen den human apathogenen Stamm K12 der E. coli Bakterien (Eli LILLY, Indianapolis, USA).

3.6.6 Rahmen - Parameter

3.6.6.1 Blutbild

Das Blutbild wurde vor Beginn der Studie, während der beiden Kombinationstestphasen mit kontinuierlicher subkutaner BHI- und BHPI-Infusion täglich, nach Ende der stationären Studienphase, sowie ein und drei Monate später ambulant kontrolliert. Auf Grund der intensiven Kontrolle der Meßparameter war entsprechend der täglichen Blutentnahmemenge von ca. einhundert- und zwanzig Milliliter bei manchen Patienten ein Abfall der Erythrozytenzahl, des Hämoglobins und Hämatokrits zu beobachten (Tab.:31). Die Auszählung des Differenzialblutbildes der zehn Diabetiker erbrachte keine wesentlichen Unterschiede zu den einzelnen Kontrollzeitpunkten.

HAEMATOLOGIE	PRAE-PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POSTPHASE n. 1 Mon. n. 3 Mon.	
Ery ($\times 10^6$)	4.5 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2	3.7 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.3
Leuko ($\times 10^3$)	6.4 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.8	5.6 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.3	6.2 $\pm$ 0.7
Hb (g/dl)	13.6 $\pm$ 0.7	12.6 $\pm$ 0.7	11.3 $\pm$ 0.6	12.9 $\pm$ 0.9	14.0 $\pm$ 0.9
Hkt (%)	40.2 $\pm$ 2.1	36.5 $\pm$ 1.9	32.7 $\pm$ 1.7	37.8 $\pm$ 2.4	41.4 $\pm$ 2.5
Thrombo ($\times 10^3$)	255.1 $\pm$ 15.4	252.8 $\pm$ 18.9	258.4 $\pm$ 21.1	291.5 $\pm$ 29.6	253.4 $\pm$ 18.6

Tab.:31 Hämatologie-Parameter der zehn Diabetiker während der Studie unter BHI bzw. BHI plus BHPI (MW $\pm$ SEM).

3.6.6.2 Parameter der Serum - Chemie

Die Parameter der Serumchemie wurden zu den gleichen Zeitpunkten wie das Blutbild kontrolliert und umfaßten nachfolgende Laborparameter: Elektrolyte, Harnsäure, Creatinin, Harnstoff, Alkalische Phosphatase, Transaminasen, Gesamteiweiß, Bilirubin, Cholesterin und Triglyceride.

Bei den zehn Patienten mit IDDM waren bei keinem der kontrollierten Laborparameter der Serumchemie Auffälligkeiten nach Ende der stationären Studienphase oder zu den späteren ambulanten Kontrollzeitpunkten ein und drei Monate nach Studienabschluß festzustellen (Tab.:32).

LABOR- PARAMETER	PRAE- PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POSTPHASE	
				n. 1 Mon.	n. 3 Mon.
Na (mval/l)	138.2 ± 0.6	140.2 ± 1.2	138.1 ± 1.6	140.4 ± 1.3	140.6 ± 0.9
K (mval/l)	4.4 ± 0.1	4.4 ± 0.2	4.3 ± 0.1	4.5 ± 0.2	4.3 ± 0.2
Ca (mval/l)	4.6 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.4 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.6 ± 0.1
P (mg/dl)	4.2 ± 0.4	4.4 ± 0.2	4.1 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.7 ± 0.3
HS (mg/dl)	5.1 ± 0.3	4.9 ± 0.4	5.1 ± 0.4	5.0 ± 0.5	5.0 ± 0.6
Cr (mg/dl)	1.5 ± 0.4	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.7 ± 0.5
HN (mg/dl)	22.1 ± 5.0	27.2 ± 7.5	23.2 ± 5.4	24.1 ± 5.1	28.9 ± 7.9
APH (U/l)	120.5 ± 9.9	114.9 ± 10.3	111.1 ± 9.6	134.1 ± 10.1	136.9 ± 13.8
GOT (U/l)	7.9 ± 1.3	6.6 ± 1.2	6.7 ± 1.1	8.7 ± 1.6	9.1 ± 2.9
GPT (U/l)	12.3 ± 2.7	11.2 ± 2.6	10.7 ± 2.7	11.8 ± 1.9	14.5 ± 3.4
GGT (U/l)	13.7 ± 2.2	12.2 ± 1.6	11.2 ± 1.3	12.1 ± 1.9	14.0 ± 2.0
EW (g/dl)	6.4 ± 0.3	6.4 ± 0.2	6.2 ± 0.2	6.9 ± 0.2	7.0 ± 0.2
BIL (mg/dl)	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
Chol (mg/dl)	236.6 ± 28.5	213.8 ± 23.5	200.9 ± 20.1	213.7 ± 14.3	231.3 ± 14.7
TRI (mg/dl)	160.3 ± 48.6	162.5 ± 34.9	158.2 ± 34.4	118.9 ± 27.7	152.8 ± 30.6

Tab.:32 Nüchtern-Laborparameter der Diabetiker während der Studie unter BHI bzw. BHI und BHPI (MW ± SEM, n=10).

3.6.6.3 Urin - Analysen

Bei der qualitativen Untersuchung des Urins auf Glucose, Eiweiß und Aceton traten bei keinem der zehn Studienteilnehmer im Kontrollzeitraum signifikante Unterschiede auf (Tab.:33). Insbesondere ergaben die Urinkontrollen auf Azeton stets negative Resultate.

Die bakteriologischen Urinuntersuchungen vor Studienbeginn, vor der zweiten Testphase, nach Studienabschluß und zu den ambulanten Kontrollzeitpunkten der Studie ergaben bei keinem der an der Studie teilnehmenden Typ I Diabetiker eine signifikante Bakteriurie.

URIN-ANALYSE	PRAE-PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POSTPHASE	
				n. 1 Mon.	n. 3 Mon.
pH	6.1 ± 0.4	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.2	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.2
Albumin	6	5	7	7	6
-	1	1	-	-	-
(+)	-	1	-	-	-
+	1	1	1	-	1
++	2	2	2	3	3
+++					
Glucose	7	6	5	5	2
-	-	-	-	-	1
(+)	2	3	3	4	4
+	-	-	-	1	2
++	1	1	2	-	1
+++					
Aceton	-	-	-	-	-
Bakte- riurie	-	-	-	-	-

Tab.:33 Befunde der Urin - Analysen der Diabetiker (n=10) während des Studienzeitraums unter BHI bzw. BHI und BHPI (MW + SEM; qualitativ auf Eiweiß, Glucose und Aceton mittels Teststreifen, Bakteriurie-Ausschluß nach 24 Stunden Wärmeinkubation).

3.6.6.4 Elektrokardiogramm

Der zu Abschluß der Studie erstellte Stromkurvenverlauf im Elektrokardiogramm zeigte im Vergleich zu dem vor kontinuierlicher subkutaner Kombinationstherapie mit BHI und BHPI vor Studienbeginn angefertigten EKG bei keinem der untersuchten Patienten mit IDDM besondere Veränderungen.

3.6.6.5 Klinische Parameter

Die körperlichen Untersuchungsbefunde der zehn Patienten mit labilem Diabetes mellitus Typ I wiesen insgesamt keine wesentlichen Änderungen auf. Alle Patienten fühlten sich nach Studienabschluß subjektiv wohl und bei keinem von ihnen waren zu den späteren Kontrollzeitpunkten irgendwelche Spätreaktionen nach der subkutanen Applikation von biosynthetischem humanem Proinsulin zu beobachten gewesen.

4. DISKUSSION

4.1 Proinsulin in der Zirkulation

In Seren Stoffwechselgesunder wurden von Heding 1977, Villeaume et al. 1981, Beischer 1982, Cohen 1985 und Deacon 1985 Nüchtern-Proinsulinspiegel gemessen, die sich im Bereich zwischen fünf bis vierzig Prozent des gemessenen Insulins im Serum befanden (51, 160, 6, 21, 25). Nach Untersuchungen von Heding und Cohen stiegen diese Werte eine Stunde nach oraler Glucosebelastung um das vier- bis sechsfache an (51, 21).

Verhältnismäßig hohe Konzentrationen von Insulin und Proinsulin-like-material (PLM) wurden gefunden bei Patienten mit chronisch renaler Insuffizienz (120, 59), Thyreotoxikose (136), Insulinom und familiärem Hyperproinsulinismus (110). Jedoch gibt es keinen Hinweis dafür, daß eine begleitende Insulinresistenz auf Effekte von Proinsulin zurückzuführen wäre (110).

Auf Grund der vorwiegend renalen Metabolisierung von Proinsulin erscheint es nicht verwunderlich, daß drei der Patienten auf Grund ihrer bestehenden renalen Insuffizienz (PAT. WZ., ST. und KD.), unter der Kombinationstherapie mit BHI und BHPI relativ hohe Proinsulinspiegel im Serum aufwiesen. Diese Ergebnisse bestätigen die von Katz und Rubenstein et al. (65, 103) beschriebene zentrale Rolle der Niere bei der Elimination von Proinsulin aus der Zirkulation.

Basierend auf der in dieser Studie angewandten indirekten Meßmethode von Serum-Proinsulin waren die gemessenen Spiegel des Proinsulin oder der Proinsulin-Intermediate (21) 500- bis 1000mal höher während der Testphasen unter der Zugabe von BHPI. Serumspiegel in diesem Bereich wurden von Heding 1977 (50) bei wenigen neu diagnostizierten Typ I Diabetikern berichtet.

4.2 "Insulin - like" - Effekt

Frühere Studien von Revers (107), Bergenstal und Olewsky (9), zeigten, daß humanes Proinsulin einen schwachen Insulin-ähnlichen Effekt ("insulin-like-effect") besitzt, sieben bis acht Prozent so potent ist wie Insulin unter peripherer Stimulation unter Verwendung von Glucose (107, 108, 9) und nach Revers et al. 1984 ungefähr zwölf Prozent an Wirksamkeit im Vergleich zu Insulin bei der Unterdrückung des hepatischen Glucose-Outputs zeigt (108). Man vermutet heute, daß der Insulinpräkursor Proinsulin die Wirkung von Insulin als wichtigstes anaboles Hormon des Organismus unterstützt und ergänzt (6).

Wie bereits frühere Studien über Rinder- und Schweine-Proinsulin demonstriert haben, besitzt Proinsulin eine eigene biologische Aktivität und bedarf keiner Konversion von Proinsulin zu Insulin (82, 111). Trotz beträchtlicher Differenzen in der Struktur zwischen humanem und Schweine-Proinsulin scheint eine ähnliche Potenz bezüglich der Stimulierung des peripheren Glucose-Uptakes vorzuliegen (107).

In der Kinetik weist Proinsulin im Vergleich zu Insulin beträchtliche Unterschiede auf. Proinsulin benötigt wesentlich längere Zeit um konstante Spiegel in der Zirkulation und einen gleichmäßigen biologischen Effekt zu erzielen (107).

4.3 Hepatischer Effekt

Die Konzentration von Proinsulin ist nach Horwitz et al. nach Glucosestimulation an der Leber höher als im peripheren Blut (56). Wie verschiedene Arbeitsgruppen berichten, scheint Proinsulin vornehmlich einen Effekt auf den hepatischen Glucose-Output auszuüben (158, 77, 102). Nach der Arbeitsgruppe von Revers et al. zeigt Proinsulin im Vergleich zur biologischen Aktivität zu Insulin ebenfalls einen größeren hepatischen Effekt als in den peripheren Geweben (107). Die Suppression auf den hepatischen Glucose-Output nach humanem Proinsulin betrug nach Untersuchungen von Revers et al. zwölf Prozent, hinweisend auf eine etwa fünfzig Prozent höhere Wirkung von humanem Proinsulin auf die Leber als in der Peripherie (107).

Diese Eigenschaft von Proinsulin könnte einen therapeutischen Vorteil bei der Behandlung des Typ I Diabetikers darstellen, da durch die Gabe von Proinsulin zusätzlich zum Insulin eine optimale Suppression auf den hepatischen Glucose-Output induziert werden könnte (9), unter Vermeidung einer peripheren Hyperinsulinämie, die für euglykämische Patienten, die mit exogenem Insulin behandelt werden geradezu charakteristisch ist (48). Neuere Untersuchungen bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus bestätigen diesen größeren Effekt von biosynthetischem humanem Proinsulin auf die Hemmung der Glucosefreisetzung der Leber (161).

4.4 Hypoglykämischer Effekt

Proinsulin zeigt einen Blutglucose-senkenden Effekt, sowohl unter alleiniger Gabe, als auch unter simultaner Gabe mit Insulin, wobei in vivo Studien beschrieben, daß die Insulinwirkung im Anschluß an eine Proinsulininjektion verstärkt ist (132). Sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus wurde eine Zunahme der Insulinbindung festgestellt.

Der verlängerte hypoglykämische Effekt von Proinsulin, der bereits von Galloway et al. und Stoll et al. beschrieben wurde, dürfte auf dessen längere biologische Halbwertszeit im Vergleich zu Insulin zurückzuführen sein (35, 36, 154).

Untersuchungen zur Pharmakodynamik von gentechnologisch hergestelltem Human-Proinsulin ergaben einen konzentrationsabhängigen, blutglucosesenkenden Effekt auch unter niedriger Dosierung (112).

Sowohl in der ersten Testphase mit zwanzig Prozent subkutan verabfolgtem BHPI, als auch mit der um die Hälfte reduzierten Dosis in der zweiten Testphase nahm Proinsulin Einfluß auf den Glucosestoffwechsel. Diese Resultate stehen in Einklang mit den Ergebnissen von Rosak et al. (112).

4.5 Substanzeigener Effekt und additive Wirkung

Trotz relativ niedriger biologischer Aktivität zeigt Proinsulin einen bemerkenswerten prolongierten hypoglykämischen Effekt nach Injektion im Tierversuch nach Stoll et al. und beim Menschen nach Bergenstal et al. (154, 9). Dieser Effekt dürfte durch die relativ längere Halbwertszeit von Proinsulin verglichen mit Insulin begründet sein (110) und könnte von therapeutischem Nutzen bei Patienten mit Typ I Diabetes mellitus sein, die einen ausgeprägten fröhorgendlichen Anstieg der Plasmaglucoe, auch als Dawn-Phänomen bezeichnet, aufweisen (9, 133). Neuere Studienergebnisse beschreiben eine protrahierte Wirkung von biosynthetischem humanem Proinsulin (96).

Nach sechs Tagen kontinuierlicher subkutaner Applikation von biosynthetischem humanem Proinsulin konnte ein additiver, jedoch kein synergistischer Effekt zwischen BHI und BHPI gezeigt werden. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den von Bergenstal et al. und Revers et al. erbrachten Untersuchungsergebnissen (9, 108).

4.6 Wirkort von Proinsulin

Wie vormalige Arbeiten berichteten, zeigt Proinsulin eine Rezeptoraffinität an den Insulinrezeptor, die nach Untersuchungen von Gavin et al., Komjati et al. und Podlecki et. al. verglichen mit Insulin deutlich vermindert ist (37, 76, 101). Die Bindungsaffinität von biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) an den Insulinrezeptor beträgt nach den Resultaten von Komjati et al. und Podlecki et al. etwa zehn Prozent der von biosynthetischem Humaninsulin (76, 101).

Die biologische Aktivität von Proinsulin ist verbunden mit den Strukturähnlichkeiten zu Insulin, die eine spezifische, aber schwache Bindung an den Insulin-Rezeptor und die Insulin-ähnlichen Effekte ermöglichen (37). Die Interaktion zwischen Proinsulin und dem Insulinrezeptor scheint die Insulinwirkung weder zu inhibieren noch zu verstärken (71).

4.7 Konversion von Proinsulin

Wir bereits in früheren Arbeiten zur Biologischen Aktivität von Proinsulin Kitabchi et al., Steiner et al. und Rubenstein beschrieben (118, 150, 74), zeigen auch neuere Untersuchungen von Bergenstal et al. 1984 keine Hinweise für einen peripheren Konversionsprozeß von Proinsulin zu Insulin (9).

In den von Bergenstal et al. veröffentlichten Ergebnissen von HPLC-Analysen, die zirkulierendes Insulin und Proinsulin-like-material (PLM) während der Proinsulininfusion analysierten, fand sich kein Anhaltspunkt für eine stattfindende Konversion von Proinsulin zu Insulin (9).

Andererseits haben HPLC-Analysen das Vorkommen von geringen Mengen von Proinsulin-Intermediaten im Plasma von Personen, ergeben, denen hohe Dosen von Proinsulin infundiert wurden (9). Obwohl es als wahrscheinlich erscheint, daß der relative Beitrag dieser Proinsulin-Splitprodukte auf die immunologische und biologische Aktivität von dem infundiertem Material nur von geringem Ausmaß ist, sind weitere Studien notwendig um ihre quantitative Bedeutung bewerten zu können.

In diesem Zusammenhang müssen neue Arbeiten erfolgen, die mit Hilfe der HPLC-Analyse untersuchen, ob sich Hinweise ergeben, daß sich bei biosynthetischem humanem Proinsulin insbesondere unter subkutaner Gabe, auf Grund des zunehmenden Potentials eine Spaltung ereignet.

4.8 Halbwertszeit von Proinsulin

Wie bereits die Ergebnisse zur Halbwertszeit von verabfolgtem Schweine-Proinsulin beim Menschen von Sonksen et al. und Starr und Rubenstein ergeben haben (119, 141, 147), bestätigen neuere Arbeiten über die HWZ von BHPI von Rosak et al. die im Vergleich zu Insulin verlängerte Halbwertszeit von Proinsulin (113). Danach beträgt die HWZ von Proinsulin 17.2 Minuten und ist somit im Vergleich zur Insulinhalbwertszeit mit 4.8 Minuten auf über das dreifache verlängert.

Die verminderte hepatische Clearance von Proinsulin im Vergleich mit Insulin ist nach den Arbeitsgruppen von Rubenstein, Katz und Rabkin et al. für diese Effekte verantwortlich (119, 65, 103).

Jedoch, weder die niedrigere Clearancerate von Proinsulin noch die höhere Präferenz bei der Unterdrückung des Glucose-Outputs (107) konnte einen Vorteil bei der Glucose-Homöostase bei den untersuchten Typ I Diabetikern im Vergleich zur Insulinwirkung unter Insulin-Monotherapie aufweisen.

4.9 Clearance von Proinsulin

Die Clearance von Proinsulin findet, wie Untersuchungen von Katz und Rubenstein gezeigt haben, primär auf renalem Weg statt (65, 103), wogegen die Insulinclearance, wie Rubenstein et al. berichteten, hauptsächlich hepatisch geschieht (119). Nach Ergebnissen von Revers et al. beträgt die Clearancerate von infundiertem biosynthetischem humanem Proinsulin fünfundzwanzig Prozent der von Insulin (107). Neuere Arbeiten zur Pharmakokinetik von humanem Proinsulin (BHPI) bestätigen, daß Proinsulin im Vergleich zu Insulin und auch zu C-Peptid langsamer metabolisiert wird (13).

4.10 Hypoglykämische Symptomatik

In den verschiedenen Studienphasen unter der Behandlungsform der kontinuierlichen subkutanen Infusion mit BHI allein oder BHI plus BHPI ergaben sich nur geringe Unterschiede in der Anzahl der gemessenen hypoglykämischen Ereignisse in den vier unterschiedlichen Phasen der Studie. Da im Verhältnis zur Prä- und Postphase sowie ebenso zur Testphase I mit zwanzig Prozent BHPI-Anteil und achtzig Prozent BHI in der zweiten Testphase mit zehn Prozent Proinsulin jedoch eine höhere Anzahl hypoglykämischer Werte dokumentiert wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, daß in den beiden Phasen unter Kombinationstherapie mit BHPI und BHI nicht eine größere Menge an klinisch stummen hypoglykämischen Ereignissen vorgekommen ist, als die Anzahl derer, die dokumentiert wurde.

Neuere Studien, die die hypoglykämische Wirkung von humanem Insulin und Proinsulin vergleichen, berichten gegenüber Insulin über einen protrahierten Wirkeffekt von BHPI (96). Weiterhin zeigte die durch Proinsulin verursachte Hypoglykämie eine geringere adrenerge Stimulation als unter Insulin, die entweder auf den langsameren initialen Blutglucoseabfall oder auf andere Eigenschaften des Proinsulins zu beziehen ist. Zusätzliche subjektive Kriterien wie Herzklopfen, Schwitzen, Hitzegefühl und Schwindelsymptome waren nach der Gabe von humanem Proinsulin weniger ausgeprägt (96).

In Anbetracht der geringeren adrenergen Stimulation von BHPI und auf Grund der Anzahl, der in der zweiten Testphase mit zehn Prozent Proinsulin dokumentierten Hypoglykämieereignisse, ist es insbesondere wegen ihres klinisch stummen Verlaufes denkbar, daß die hypoglykämische Symptomatik unter CSI-Therapie mit biosynthetischem humanem Proinsulin im Vergleich zu biosynthetischem humanem Insulin eine subjektiv geringer ausgeprägte Symptomatik zeigt. Für eine Klärung dieser Frage sind weitere Studien mit gezielter Fragestellung notwendig.

4.11 Gegenregulatorische Hormone

Die einzelnen Tagesprofile der gegenregulatorischen Hormone, wie Glucagon, Cortisol, humanem Wachstumshormon und Prolaktin waren sehr ähnlich in den beiden Studienphasen unter der BHPI-Applikation, vergleichbar mit den vormals von Hellmann 1970 und Aschoff 1979 gemessenen täglichen Profilen der vorgenannten Hormone bei freiwilligen gesunden Probanden (52, 3).

4.12 Verträglichkeit und Immunogenität von BHPI

Im Gegensatz zu dem früher verwendeten Proinsulin animalischer Herkunft (Rinder- oder Schweine-Proinsulin) zeigte BHPI bislang eine gute Verträglichkeit und soweit man bis heute weiß, scheint auch die immunogene Potenz von BHPI nur gering zu sein (153).

Nach einer Zeitdauer von sechs Tagen kontinuierlicher subkutaner Applikation von BHPI zeigten sich keine nennenswerten Unverträglichkeitserscheinungen. Es traten weder Reaktionen vom Soforttyp, noch schwerwiegende verzögerte lokale Hautreaktionen (Typ IV) auf. Bei keinem der untersuchten Patienten mit Typ I Diabetes mellitus traten feststellbare Nebenwirkungen während des Behandlungszeitraums mit BHPI in Erscheinung. Wie Studien zur Immunogenität von durch Neukombination synthetisiertem BHI durch den E. coli Stamm K12 ergaben, ist der immunogene Einfluß seitens der Herstellung nur gering (140). Auf Grund desselben zur Biosynthese von humanem Proinsulin verwendeten E. coli-Stammes kann gefolgert werden, daß die durch die Synthese bedingt mögliche Immunogenität von BHPI ebenfalls eine untergeordnete Rolle spielen dürfte.

Nach Analysen von Eli LILLY erfolgt nur eine kaum nennenswerte Antikörperbildung (IgG/IgM, IgE, zellständige oder Komplement vermittelte AK) gegenüber BHPI und E. coli-Bakterien (32). Gezielte Studien mit einem längeren Applikationszeitraum müssen allerdings zeigen, ob BHPI auch in der Langzeittherapie gut vertragen wird und ob auch dann kaum eine Bildung von Antikörpern gegen Proinsulin auftritt (Booster-Effekt).

4.13 Wirksamkeit unter CSI - Applikation

Es konnte gezeigt werden, daß BHPI (biosynthetisches humanes Proinsulin) bei kontinuierlicher subkutaner Infusion unter CSI - Therapie vom Organismus aufgenommen wird und seinen Wirkort im Zielgewebe erreicht.

Die Arbeitsgruppe von Beischer und Pfeiffer et al. berichtete bei Untersuchungen zur Stoffwechselkontrolle unter basaler Infusion von Proinsulin beim Diabetes mellitus Typ I bei ihrer Patientengruppe über einen verminderten Hormonbedarf und eine bessere Einstellung der Blutglucose (7).

Im Gegensatz dazu fand sich in unserem Patientenkollektiv mit labilem Typ I Diabetes mellitus kein eindeutiger Vorteil einer kombinierten Behandlung mit humanem Proinsulin und Insulin. Die kontinuierliche s.c. Infusionsbehandlung (CSI) von BHI mit achtzig oder neunzig Prozent plus BHPI mit zwanzig oder zehn Prozent, hervorgehend aus einer Gesamthormondosis eines biologischen Äquivalents zu einer kontinuierlichen subkutanen Insulin-Infusion allein, resultierte in einem sehr ähnlichen Blutglucoseverlauf, gemessen als Mittlere Blutglucose (MBG), mittlere Fläche unter der Glucosekonzentrationskurve gegen die Zeit (AUC) und als Mittlere Amplitude der Glucoseschwankung (MAGE) pro Studientag.

Diese Resultate stehen in Einklang mit den von Bergenstal et al. berichteten Ergebnissen über den Effekt von kontinuierlicher subkutaner Infusion von Insulin (BHI) allein oder kombinierter separater Infusionstherapie von biosynthetischem humanem Insulin und biosynthetischem humanem Proinsulin (9).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Biosynthetisches humanes Proinsulin (BHPI) stellt bei subkutaner Gabe unter kontinuierlicher Infusionstherapie (CSI) eine gut verträgliche Substanz dar, die es vermag, den Blutglucose-spiegel erfolgreich zu senken.

Jedoch, trotz der längeren metabolischen Clearancerate und einer höheren vornehmlichen Aktion am Glucosestoffwechsel an der Leber und einem geringeren Effekt an den peripheren Geweben, zeigt BHPI schließlich keinen synergistischen Effekt zu Insulin und erscheint BHI nicht überlegen bei der Stabilisierung des Glucosestoffwechsels bei labilen Typ I Diabetikern in diesem experimentellen Studienansatz.

Welche Rolle die zusätzliche oder alleinige Applikation von biosynthetischem humanem Proinsulin (BHPI) in Zukunft in der Therapie des Diabetes mellitus Typ I oder Typ II spielen wird, wird Gegenstand weiterer Studien mit neuen Studienansätzen mit größeren Patientenzahlen, eventuell gesteigerten Proinsulindosen und einer längeren Therapiedauer sein.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abraham E. C., Huff T. A., Cope N. D., Wilseon I.B.,
Bransome E. D., Huisman T. H. J.: Determination
of the glycosylated hemoglobin (HbA1) with a
new microcolumn procedure
Diabetes 27 (1978): 931 - 937
2. Arquilla E. R., Dorio R. J. D., Brugman T. H.
Structural studies of insulin and insulin deri-
vates using various immunologie indicators and
antibody populations
Diabetes Vol. 25 (1976): 397 - 403
3. Aschoff J.
Circadian Rhythms: General features and endocri-
nological aspects
In: Endocrine Rhythms (D. T. Krieger, ed. Raven
Press, New York (1979): 1 - 61
4. Banting F. G., Best C. H.
Internal secretion of pancreas
J. Lab. Clin. 7 (1922): 251
5. Beck-Nielsen H., Richelsen B., Hasling C.,
Nielsen O. H., Heding L., Sorensen N. S.
Improved in vivo insulin effect during CSII
in patients with IDDM
Diabetes, Vol. 33 (1984): 832 - 837
6. Beischer W.
Das Vorkommen von Proinsulin und C-Peptid bei
Gesunden und bei Diabetikern
Fortschr. Med. 100 Jg., 33 (1982): 1508 - 1512

7. Beischer W., Wallmüller G., Kerner W., Hedderich U.,
Schlüter K. J., Pfeiffer E. F.
Stoffwechselkontrolle unter basaler Infusion
von Proinsulin beim Typ I Diabetes
Akt. Endokr. Stoffw. 6 (1985): 78
8. Bell G. I., Pictet R. L., Rutter W. J., Cordell B.,
Tischer E., Goodman H. M.
Sequence of the human insulin gene
Nature 284 (1980): 26 - 32
9. Bergenstal R. M., Cohen R. M., Lever E., Polonsky
K., Jaspan J., Blix P. M., Revers R., Olefsky
J. M., Kolterman O., Steiner K., Cherrington
A., Frank B., Galloway J., Rubenstein A. H.
The metabolic effects of Biosynthetic Human
Proinsulin in individuals with type I diabetes
J. Clin. Endocrinol. Metab. 58 (1984): 973-979
10. Berger M., Jörgens V.
Praxis der Insulintherapie
2. Aufl. Springer Berlin Heidelberg New York
(1985): 1 - 49, 61 - 65, 98 - 114, 130 - 155
11. Binder C., Lauritzen T., Faber O., Pramming S.
Insulin Pharmacocinetics
Diabetes Care, Vol. 7, 2 (1984): 188 - 199
12. Bottermann P., Gray I. P., Zilker T., Ermler R.,
Olczak S. A.
Proinsulinsekretion im intravenösen und oralen
Glucosetoleranztest sowie nach einer Testmahl-
zeit bei stoffwechselgesunden Personen
Akt. Endokrin. Stoffw. 6 (1985): 80
13. Bottermann P., Gray I. P., Zilker T., Heinzel G.,
Ermler R., Wahl K., Lebender A.
Pharmakokinetik von biosynthetischem
Human-Proinsulin
Akt. Endokrin. Stoffw. 6 (1985): 79

14. Brunsman A. R.
New enzyme probe for glucose analysis
YSI, Yellow Springs, Ohio, Pitts. Conf.
Analytical Chemistry (1973)
15. Bunn H. F.
Non enzymatic glycosylation of protein:
a form of molecular aging
Schweiz. med. Wschr. 111 (1981): 1503 - 1507
16. Cardiac Pacemakers, Inc.
BETATRONTM II - Insulin Infusion Pump Modell
9200 Physican's Manual
Cardiac Pacemakers, Inc., St. Paul, MN, USA: 1-45
17. Chance R. E., Ellis R. M., Bromer W. W.
Porcin Proinsulin: characterisation and amino
acid sequence
Science 161 (1968): 165 - 167
18. Chance R. E.
Amino Acid Sequences of Proinsulins and
Intermediates
Diabetes 21, Suppl. 2 (1972): 461
19. Chance R.E., Kroeff J.A., Hoffmann J.A., Frank B.H.
Chemical, physical and biological properties of
Biosynthetic Human Insulin
Diabetes Care 4 (1982): 147 - 154
20. Clark L. C.
Membrane polarographic electrode system and
method with electrochemical compensation
YSI Model 23A-Instruction Manual, Scientific
Division, Yellow Springs, Ohio, USA (1970):
US-Pat. 3539455

21. Cohen R. M. Nakabayashi T., Blix P. M., Rue P. A.,
Shoelson S. E., Root M. A., Frank B. H., Revers
R. R., Rubenstein A. H.
A radioimmunoassay for circulating human
proinsulin
Diabetes 34 (1985): 84 - 91
22. Constam G. R.
The long - term prognosis of diabetes mellitus
In: Annals of Life Insurance Medicine, Vol. 3
Springer Berlin Heidelberg New York (1967): 229
23. Constam G. R.
Die Prognose des Diabetes
Handbuch der Inneren Medizin
5. Aufl. Hg. Oberdisse K. Bd. 7/2B, Springer
Berlin Heidelberg New York (1977): 1067
24. Day J. F., Ingebretsen C. G., Ingebretsen W. R.,
Baynes J. W., Thorpe S. R.
Nonenzymatic glycosylation of serum proteins
and hemoglobin: response to changes in blood
glucose levels in diabetic rats
Diabetes 29 (1980): 524 - 527
25. Deacon C. F., Conlon J. M.
Measurement of circulating human proinsulin
concentrations using a proinsulin-specific
antiserum
Diabetes 34 (1985): 491 - 497
26. Dimitriadis G. D. und Gerich J. E.
Importance of timing of preprandial subcuta-
neous insulin administration in the management
of diabetes mellitus
Diabetes Care 6 (1983): 374 - 377

27. Dolhofer R. und Wieland O. H.
Increased glycosylation of serum albumin in
diabetes mellitus
Diabetes 29 (1980): 417 - 422
28. Elliott R. B., O'Brien D., Roy CC.
An abnormal insulin in juvenile diabetes
mellitus
Diabetes 14 (1965): 780
29. Elliott R. B.
Abnormal "insulin", "proinsulin" and "big"
insulin in diabetes
Lancet 2 (1969): 1076
30. Ewe W.
Aktuelle Begriffe - Gentechnologie
Hg. Stegemann W., Thomae,
Biberach a. d. Riss (1983): 16 - 25, 42 - 50
31. Fineberg S. E., Merimee T. J.
Proinsulin: metabolic effects in the
human forearm
Science 167 (1970): 998 - 999
32. Frank B.H., Pettee J.M., Zimmermann R.E, Burck P.J.
The production of human proinsulin and its
transformation to human insulin and C-peptide
Peptides: Synthesis - Structure - Function,
Proceedings of The Seventh American Peptide
Symposium. Rockford, Pierce Chemical CO.
(1981): 729 - 738
33. Freychet P.
The interactions of proinsulin with insulin
receptors on the plasma membrane of the liver
J. Clin. Invest. Vol 54 (1974): 1020 - 1031

34. Gabbay K. H., Hasty K., Breslow J. L., Ellison R.D.,
Bunn H. F., Galop P. M.
Glycosylated hemoglobins and long - term blood
glucose control in diabetes mellitus
J. Clin. End. Metab. 44 (1977): 859 - 864
35. Galloway J. A., Root M. A., Chance R. E.,
Rathmacher R. P., Challoner D. R., Shaw W. N.
In Vivo Studies of the Hypoglycemic Aktivity of
Porcine Proinsulin
Diabetes 18 (1969): 341
36. Galloway J. A., Rathmacher R. P., Root M. A.,
Crabtree R. E., Chance R. E.
The Effects of Low Doses of Intravenous
Proinsulin and Insulin Combinations in Normal
Fasted Man
J. Lab. and Clin. Med. 78 (1971): 991
37. Gavin J. R., Kahn C. R., Gordon P., Roth J.,
Neville D.M.
Radioreceptor assay of insulin: comparison of
plasma and pancreatic insulins and proinsulins
J. Clin. Endocrin. Metab. 41 (1975): 438 - 445
38. Glieman J., Sorensen H. H.
Assay of insulin - like activity by the
isolated fat cell method 4. the biological
activity of proinsulin
Diabetologia 6 (1979): 499 - 504
39. Goeddel D. V., Kleid D. G., Bolivar F.
Expression in Escherichia coli of chemically
synthesized genes for human insulin
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76 (1979): 106 - 110

40. Goldstein D.E., Parker M., England J.D.,
England J.E., Wiedmeyer H.-M., Rawlings S.S.,
Hess R., Little R. R., Simonds J. F.,
Breyfogle R.P.
Klinische Anwendung der Messung von glykosy-
liertem Hämoglobin
Diabetes 31, Suppl. 3 (1982): 70 - 78
41. Gonen B., Rubenstein H. A.
Hemoglobin A₁ in diabetes mellitus
Diabetologia 15 (1978): 1
42. Gordon P., Roth J.
Plasma insulin: fluctuation in the "big"
insulin component in man after glucose and
other stimuli
J. Clin. Invest. 48 (1969): 2225 - 2234
43. Gordon P., Sherman B., Roth P.
Proinsulin like component of circulating
insulin in the basal state and in patients and
hamsters with islet cell tumors
J. Clin. Invest. 5 (1971): 2113 - 2121
44. Grant R. T., Coombs T. L., Frank B. H.
Differences in the nature of the interaction of
insulin and proinsulin with zinc
Biochem. J. 126 (1972): 433 - 440
45. Gutman R., Lazarus N., Penhos J., Fajans S.,
Recant L.
Circulating proinsulin-like material in
functioning insulinomas
New Eng. J. Med. 284 (1971): 1003
46. de Haaen C., Little S. A., May J. M., Williams R. H.
Characterization of proinsulin-insulin
intermediates in human plasma
J. Clin. Invest. 62 (1978): 727 - 737

47. Hales C. N., Randle P. J.
Immunoassay of insulin with insulin antibody
precipitate
Biochem. J. 88 (1963): 137 - 146
48. Hayford J. T. und Thompson R. G.
Free and total insulin integrated concentrations in insulin dependent diabetes
Metabolism 31 (1982): 387 - 397
49. Heding L. G.
Radioimmunological determination of pancreatic
and glucagon in plasma
Diabetologia 7 (1971): 10 - 19
50. Heding L. G.
Specific and direkt radioimmunoassay for human
proinsulin in serum
Diabetologia 13 (1977): 467 - 474
51. Heding L. G., Ludvigsson J.
Human proinsulin in insulin - treated juvenile
diabetes
Acta Paediatr. Scand. Suppl. 270 (1977): 48-52
52. Hellman L., Nakada F., Curti J., Weitzman E. D.,
Kream J., Roffwarg H., Ellman S., Fukushima
D.K. Gallagher T. F.
Cortisol is secreted episodically by normal man
J. Clin. Endocrinol. Metab. 30 (1970): 411-422
53. Hepp K. D., Renner R.
Continuous insulin infusion therapy-
experience from one decade
Schattauer Symposium Munich
(1984): 1 - 5, 107 - 152
54. Heß D.
Genetik - Studio visuell
Herder Freiburg Basel Wien (1977): 59 - 66

55. Hollander P.

Diabetes mellitus - Argumente für die optimale
Blutzuckereinstellung
Tempo Medical 22 (1985): 14 - 17

56. Horwitz D.L., Starr I.J., Mako M.E., Blachard W.G.,
Rubenstein A. H.

Proinsulin, insulin and C-peptid concentrations
in human portal and peripheral blood
J. Clin. Invest. 55 (1975): 1278 - 1283

57. Hubbuch A.

Die Bestimmung glykosilierter Hämoglobine
Lab. med. 9 (1985): 240 - 249

58. James T. M., Davis J. E., McDonald J. M.,
Santiago J. V., Ladenson J. H.

Comparison of hemoglobin A_{1C} and hemoglobin A₁
in diabetic patients
Clin. Biochem. 14 (1981): 25

59. Jaspan J. B., Mako M. E., Kuzuya H., Blix P. M.,
Horowitz D. L. Rubenstein A. H.

Abnormalities in circulating beta cell peptides
in chronic renal failure: comparison of
C-peptide, proinsulin and insulin
J. Clin. Endocrin. Metab. 45 (1977): 441 - 446

60. Johnson J. S.

Authenticity and purity of human insulin
(recombinant DNA)
Diabetes Care, Vol. 5, Suppl. 2 (1982) 4 - 12

61. Joslin E. P., Root H. F., White P.

The growth development and prognosis of
diabetic children
JAMA 85 (1925): 420

62. Joslin E. P.
Joslin's Diabetes Mellitus
12. Ed., Lea und Febiger, Philadelphia, USA
(1985): 393
63. Kanazawa Y., Hayashi M.
Familial proinsulinemia: a possible cause of
abnormal glucose tolerance
Diabetes 28, Abs. 108 (1979)
64. Katsch G.
Garzer Thesen
Klin. Wochenschr. 16 (1937): 399
65. Katz A. J. and Rubenstein A. H.
Metabolism of proinsulin, insulin and C-peptide
in the rat
J. Clin. Invest. 52 (1973): 1113 - 21
66. Kemmler W., Peterson D., Steiner D. F.
Studies on the Conversion of Proinsulin
to Insulin
J. Bio. Chem. Vol.246, 22 (1971): 6786 - 6791
67. Kemmler W., Steiner D. F., Borg J.
Studies on the conversion of proinsulin to
insulin. III: Studies in vitro with a crude
secretion granule fraction isolated from rat
islets of langerhans
J. Biol. Chem. 148 (1973): 4544
68. Kemmler W.
Insulin synthesis in β -cells
In: Handb. exp. pharmacol. insulin II,
32/2 (1975)
69. Kerner W., Pfeiffer E. F.
Humaninsulin - Herstellung, Wirkung und
therapeutische Anwendung
Deutsches Ärztebl. 79 (1982): 25 - 30

70. Ketelslegers J. M., Buysschaert M., Lambert A. E., Saussez C.
Radioimmunoassay for human C-peptide: methods and clinical applications
IRE Publication - 08.82/1
71. Kitabchi A. E.
The biological and immunological properties of pork and beef insulin, proinsulin and connecting peptides
J. Clin. Invest. 49 (1970): 979 - 987
72. Kitabchi A. E., Duckworth W. C., Benson B.
In vivo effects of insulin and proinsulin on diaphragm and epididymal fat pads in rats
Diabetes 21 (1972): 335 - 338
73. Kitabchi A.E., Duckworth W.C., Stenz F.B., Yu S.S.
Properties of proinsulin and related polypeptides
In: Harts R. (ed): CRC Critical Reviews in Biochemistry, Cleveland Chemical Rubber CO. pp. (1972): 55 - 94
74. Kitabchi A. E.
Proinsulin and C-peptide: A review
Metabolism 26 (1977): 548 - 587
75. Koenig R. J. C. M., Peterson C. M., Jones R. L., Saudeck C., Lehrmann M., Cerami A.
Correlation of glucose regulation and hemoglobin A₁ in diabetes mellitus
N. Engl. J. Med. 295 (1976): 417 - 420
76. Komjati G., Waldhäusl W., Mittelviefhaus H.
Vergleich von Bindungseigenschaften und biologischer Aktivität von biosynthetischem Humaninsulin, - Proinsulin und C-Peptid in vitro
Akt. Endokr. Stoffw. 2 (1982): 113

77. Kramer U., Hartmann H., Creutzfeldt W.
Vergleich der hypoglykämischen Wirkung von
Insulin und Proinsulin an der intakten und an
der eviszerierten/hepatektomierten Ratte
Akt. Endokr. Stoffw. 6 (1985): 94
78. Kuzuya H., Blix P. M., Horwitz D. L., Steiner D. F.,
Rubenstein A. H.
Determination of free and total insulin and
C-peptide in insulin treated diabetics
Diabetes 26 (1977): 22 - 29
79. Landgraf R., Kammerer S., Bock T., Smolka B.,
Ladik T., Enzmann F., Landgraf-Leurs M. M. C.
Crossover study with human insulin (recombinant
DNA) in type I diabetic subjects
Diabetes Care, Vol. 5, Suppl. 2 (1982): 39 - 42
80. Lauritzen T., Pramming S., Deckert T., Binder C.
Pharmakokinetics of continuous subcutaneous
insulin infusion
Diabetologia 24 (1983): 326 - 329
81. Lazarus N. K., Tanese T., Gutman R., Recant K.
Synthesis and release of proinsulin and insulin
by human insulinoma tissue
J. Clin. Endocrinol. Metab. 30 (1970): 273-281
82. Lazarus N., Penhos J. C., Tanese T., Michaels L.,
Gutman R., Recant L.
Studies on the biological activity of porcine
proinsulin
J. Clin. Invest. 49 (1970): 487 - 96
83. Lazarus N. K., Gutman R. A., Penhos J. C., Recant L.
Biologically active circulating proinsulin like
material from an islet cell carcinoma patient
Diabetologia 8 (1972): 131 - 135

84. Lock D. R., Rigg L. A.
Hypoglycaemic coma associated with subcutaneous
insulin infusion by portable pump
Diabetes Care 4 (1981): 389
85. Mako M.E., Block M., Starr J., Nielsen E.,
Friedman E., Friedman A. H.
Proinsulin in chronic renal and hepatic failure
A reflection of the relative contribution of
the liver and kidney on its metabolism
Clin. Res. 21 (1973): 601
86. McFarland et al.
Nonenzymatic glycosylation of serum proteins
in diabetes mellitus
Diabetes 28 (1979): 1011 - 1014
87. Mecklenburg R. S., Benson E. A., Benson J. W.,
Fredlund P. N., Guinn T., Metz R. J., Nielsen
R. L., Sannar C. A.
Acute complications associated with insulin
infusion pump therapy
J. Amer. med. Ass. 252 (1984): 3265
88. Mehnert H. und Schöffling K.
Diabetologie in Klinik und Praxis
2.Aufl., Thieme Stuttgart New York
(1984): 20 - 31, 84, 649
89. Melani F., Rubenstein A. H., Steiner D. F.
Human serum proinsulin
J. Clin. Invest. Vol. 49 (1970): 497 - 507
90. Mirouze J. und Collard F.
Continuous blood glucose monitoring in brittle
diabetes
In: Malaisse, W.J., Pirart J., Vallance-Owen J.
(eds): Diabetes, 8th Congr. Intern. Diab. Fed.
Brüssels 1973, Excerpta Medica, Amsterdam
(1974): 532

91. Molnar G. D., Taylor W. F., Langworthy A. L.
Plasma immunoreactive insulin patterns in
insulin-treated diabetics. Studies during
continuous blood glucose monitoring.
Mayo Clin. Proc. 47 (1972): 709
92. Murken J.-D., Cleve H., Ekkehardt A., Bauchinger M.,
Daumer K., Endres M., Knorr D., Kunze D.,
Stengel-Rutkowsky S., Zerbin-Rüdin E.
Humangenetik
2. Aufl. Enke Stuttgart (1979): 1 - 6
93. Netter F. H.
Endocrine system and selected metabolic
diseases
The Ciba Collection of Medical Illustrations
Vol. 4 (1981): 218 - 220
94. Oyer P. E., Cho S., Peterson J. D. Steiner D. F.
Studies on human proinsulin isolation and amino
acid sequence of the human pancreatic C-peptide
J. Biol. Chem. 246 (1971): 1357 - 1386
95. Patzelt C., Labrecque A. D., Duguid J. R. et al.
Detection and kinetic behaviour of prepro-
insulin in pancreatic islets
Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 75 (1978) 1260
96. Petersen K. G., Licht T., Pilot P.-R., Storch M.,
Lehmann M., Kerp L.
Hypoglykämie durch Insulin und Proinsulin.
Ein Vergleich
Akt. Endokr. Stoffw. 6 (1985): 102
97. Petrides P., Weiss L., Löffler G., Wieland O. H.
Diabetes mellitus
5. Aufl. Urban und Schwarzenberg München Wien
Baltimore (1985): 3 - 21, 76 - 93, 105

- 98: Pfeiffer E. F., Beischer W., Kerner W.
The artificial pancreas in clinical research
In: Blood glucose monitoring,
Horm. Metabolic Res. Suppl. Ser. 7
(1977): 95 -114
99. Phelps R. J., Bergenstal R., Treinkel N., Rubenstein A. H., Metzger B. E., Unko N.
Relationship between plasma insulin and proinsulin during late pregnancy in normal and diabetic subjects
J.Clin. Endocrinol.Metab. 41 (1975): 1092-1097
- 100.Pickup J. C., Keen H.
Continuous subcutaneous insulin infusion:
a developing tool in diabetes research
Diabetologia 18 (1980): 1 - 4
- 101.Podlecki D. A., Frank B. H., Olefsky J. M.
In vitro characterization of biosynthetic human proinsulin
Diabetes 33 (1984): 111 - 118
- 102.Probst J., Hartmann H., Jungermann K., Creutzfeldt W.
Insulin-like action of proinsulin on rat liver carbohydrate metabolism in vitro
Diabetes 34 (1985): 415 - 419
- 103.Rabkin R., Ross B. D., Mako M. E., Rubenstein A. H.
The handling of insulin, proinsulin, and C-peptide by the isolated rat kidney
Diabetes 27, Suppl. 1 (1978): 192 - 196
- 104.Rabkin R., Ryan M. P., Duckworth W. C.
The renal metabolism of insulin
Diabetologia 27 (1984): 351 - 357

105.Raskin P.

The Somogyi phaenomen, sacred cow or bull?

Arch. Intern. Med. 144 (1984): 781 - 787

106.Renner R.

Pumpentherapie

1. Münchn. Stoffw. Tage (1985): 1 - 4

107.Revers R. R., Henry R., Schmeiser L., Cohen R.,

Bergental R., Polonsky K., Jaspan J., Ruben-

stein A., Frank B., Galloway J., Olewsy J. M.,

The effects of biosynthetic human proinsulin on
carbohydrate metabolism

Diabetes 33 (1984): 762 - 770

108.Revers R. R., Henry R., Schmeiser L., Kolterman O.,

Cohen R., Rubenstein A., Frank B., Galloway J.,

Olewsy J. M.

Biosynthetic human insulin and proinsulin have
additive but not synergistic effects on total
body glucose disposal

J. Clin. Endocrinol. Metab.58 (1984): 1094-1098

109.Richter J.

Insulin: Pysiologie und Pathopyhsiologie-
Folgen des Insulinmangels

Richter, Hoechst Frankfurt (1982): 17 - 25

110.Robbins D. C., Tager H. S., Rubenstein A. H.

Biologic and clinical importance of proinsulin

New Engl. J. of Med. Vol. 310, 18

(1984): 1165 - 1175

111.Root M. A., Ellis R. M., Chance R. E., Galloway J.A.

Preparation and use of a purified porcine
antiserum

Diabetes 19 (1970): 359 - 365

112. Rosak C., Böhm B. O., Althoff P. H.,
Schifferdecker E., Jungmann E., Schöffling K.
Zur Pharmakodynamik von gentechnologisch
hergestelltem Human-Proinsulin
Akt. Endokr. Stoffw. 6 (1985): 105
113. Rosak C., Böhm B. D., Althoff P. H., Fassbinder W.,
Schöffling K.
This Issue 1986
114. Roth J. P., Gordon R., Pastan I.
"Big Insulin"; new component of plasma insulin
detected by immunoassay
Proc. Nat. Acad. Sci US 61 (1968): 138
115. Rubenstein A. H., Cho S., Steiner D. F.
Evidence for proinsulin in human urine
and serum
Lancet 6 (1968): 1353
116. Rubenstein A. H., Clark J. L., Melani F.,
Steiner D. F.
Secretion of proinsulin C-peptide by pancreatic
B cells and its circulation in blood
Nature 224 (1969): 697
117. Rubenstein A. H. und Steiner D. F.
Proinsulin: The Single Chain Precursor
of Insulin
Med. Clin. N. Am. 54 (1970): 191 - 199
118. Rubenstein A. H., Block M. B., Starr J., Melani F.,
Steiner D. F.
Proinsulin and C-peptide in blood
Diabetes 21, Suppl. 2 (1972): 661 - 672

119. Rubenstein A. H., Pottenger L. A., Mako M.,
Getz G. S., Steiner D. F.
The metabolism of proinsulin and insulin by
the Liver
J. Clin. Invest. 51 (1972): 912 - 921
120. Rubenstein A. H., Mako M., Horowitz D. L.
Insulin and the kidney
Nephron 15 (1976): 306 - 326
121. Rubenstein A., Robbins D., Tager H., Blix P.,
Bergenstal R., Given B., Kanazawa Y.
Clinical significance of circulating
proinsulin and C-peptide
New Engl. J. Med. 302 (1980): 129
122. Sachs L.
Statistische Methoden
Springer Berlin Heidelberg New York
5. Aufl. (1982): 19 - 22, 100 - 104
123. Sachs L.
Angewandte Statistik. Statistische Methoden
und ihre Anwendungen
Springer Berlin Heidelberg New York
5. Aufl. (1978): 244 - 246
124. Sanger F. und Thompson EOP.
The amino acid sequence in the glycyl chain
of insulin. 1. The identification of lower
peptides from partial hydrolysates
Biochem. J. (1953): 353 - 366
125. Sauer H.
Diabetes-Therapie
Springer Berlin Heidelberg New York
(1984): 4 - 10, 72 - 92, 171 - 201

- 126.Scerson R. L., Steffes N. W., Lindall A. W.
Subcellular localisation of proinsulin to
insulin conversion in isolated rat islets
Endocrinol. 86 (1970): 88, - 96
- 127.Schade D. S., Eaton R. P., Friedman N., Spencer W.
The intravenous, intraperitoneal and
subcutaneous routes of insulin delivery
in diabetic man
Diabetes 28 (1979): 1069 - 1073
- 128.Schade D. S., Drumm D. A., Duckworth W. C. Eaton R.
The etiology of incapacitating, brittle
diabetes
Diabetes Care 8 (1985): 12 - 20
- 129.Schade D. S., Eaton R. P., Drumm D. A., Duckworth W.
A clinical algorithm to determine the etiology
of brittle diabetes
Diabetes Care 8 (1985): 5 - 11
- 130.Schadewaldt H.
Geschichte des Diabetes mellitus
Springer Berlin Heidelberg New York 1975
- 131.Schein P. S., Pelellis R. A., Kahn C. R., Gordon P.,
Kraft A. R.
Islet cell tumors: current concepts
and managemant
Ann. Intern. Med. 79 (1973): 239 - 257
- 132.Schlüter K. J., Petersen K. G., Frank B.,
Enzmann F., Kerp L.
Die Stimulation der Insulinbindung durch
Proinsulin
Akt. Endokr. Stoffw. 2 (1982): 101

133. Schmidt M. I., Georgopoulos A. H., Rendell M.,
Margolis S., Kowarski A.
The dawn phenomenon, and early morning glucose
rise: implications for diabetic intraday blood
glucose
Diabetes Care 4 (1981): 579
134. Schmidt R. F. und Thews G.
Physiologie des Menschen
20. Aufl. Springer Berlin Heidelberg New York
(1980): 640, 745, 746
135. Service F. J., Molnar G. D., Rosevaer J. W.,
Ackermann E., Gatewood L. C., Taylor W. F.
Mean amplitude of glycemic excursions,
a measure of diabetic instability
Diabetes 19 (1970): 644 - 655
136. Sestoft L. und Heding L. G.
Hypersecretion of proinsulin in thyrotoxicosis
Diabetologia 21 (1981): 103 - 107
137. Shaw W. N. und Chance R. E.
Effect of porcine proinsulin in vitro on
adipose tissue and diaphragm of the normal rat
Diabetes 17 (1968): 737 - 742
138. Sherman B. U., Pela S., Fajans S. S., Floyd J.D.,
Conn J. W.
Plasma proinsulin in patients with functioning
pancreatic islet cell tumors
J.Clin. Endocrinol. Metab. 35/2 (1972): 271-280
139. Sinha Q. N., Seliby F.W., Lewis V.J., Vanderlaan W.
A homologous RIA for h - prolactin
J. Clin. Endocrinol. 36 (1973): 509
140. Skyler J. S. and Raptis S.
Symposium on biosynthetic human insulin
Diabetes Care 4 (1981): 139 - 264

141. Sonksen P. H., Tompkins C. V., Srivastava M. C.,
Nabarro J. D. N.
A Comparative Study on the Metabolism of Human
Insulin and Porcine Proinsulin In Man
Clin. Sc. and Mol. Med. 45 (1973): 633 - 654
142. Sonnenberg G. E., Chantelau E., Berger M.
Ein neues therapeutisches Prinzip in der
Diabetologie: Kontinuierliche Insulin-Infusion
mittels portabler Pumpen
Dtsch. med. Wschr. 106 (1981): 891 - 893
143. Sonnenberg G. E., Chantelau E., Berger M.
Routine treatment of insulin-dependent diabetes
mellitus with continuous subcutaneous insulin-
infusion
In Skyler J. S. (Ed.): Insulin update 1982
Excerpta medica: Amsterdam 1982: 223
144. Sonnenberg G.E., Spraul M., Chantelau E.A.,
Berger M.
Kontinuierliche subkutane Insulin-
Infusionstherapie
Dtsch. med. Wschr. 110 (1985): 1859 - 1864
145. Stalla G., Müller O. A., Wood W. G., Scriba P. C.
Probleme bei der Automatisierung der radioimmu-
nologischen Serum-Cortisolbestimmung
Fresenius Z. Anal. Chem. 290 (1978): 168 -169
146. Stalla, G.
Optimierung der Radioimmunologischen Bestim-
mungsmethoden von Cortisol und Calcitonin
Dissertation 1980, LMU München
147. Starr J., Rubenstein A. H.
Metabolism of endogenous proinsulin and
insulin in man
J. Clin. Endocrinol. Metab. 38 (1974): 305 - 308

148. Starr J. D., Rubenstein A. H.
Measurement of serum proinsulin like material:
crossreactivity of porcine and human proinsulin
in the insulin radioimmunoassay
J. Lab. Clin. Med. 91 (1978): 683 - 692
149. Steiner D. F. und Oyer P.
The biosynthesis of insulin and a probable
precursor of insulin by a human cell adenoma
Proc. Nat. Acad. Sci. US 57 (1967): 473
150. Steiner D. F., Cunningham D., Spigelmann L., Aten B.
Insulin biosynthesis: evidence for a precursor
Science 157 (1967): 697 - 700
151. Steiner D. F., Hallund O., Rubenstein A. H., Cho S.,
Bayliss C.
Isolation and Properties of Proinsulin,
Intermediate Forms, and Other Minor Components
from Crystalline Bovine Insulin
Diabetes 17 (1968): 725
152. Steiner D. F., Kemmner W., Clark J. L., Oyer P.E.,
Rubenstein A. H.
The biosynthesis of insulin
Handbook of Physiology and Endocrinology I,
Chapt. 10
153. Steiner D. F. et al.
Structural and immunological studies on
human proinsulin
Diabetes Proc. seventh Cong. Int. Diab. Fed.
Amsterdam. Excerpta Medica Foundation
(1971): 281

154. Stoll R. W., Touber J. L., Winterscheid L. C.,
Ensink J. W., Williams R. H.
Hypoglycemic activity and immunological half-
life of porcine insulin and proinsulin in
baboons and swine
Endocrinology 88 (1971): 714 - 717
155. Tattersall, R.
Brittle diabetes
Clin. Endocrin. Metab. 6 (1977): 403 - 419
156. Tchobroutsky G.
Relation of diabetic control to development
of microvascular complications
Diabetologie 15 (1978): 143 - 152
157. Teutsch S. M., Herman W. H., Dwyer D. M., Lane J. M.
Mortality among diabetic patients using
continuous subcutaneous insulin-infusion pumps
New Engl. J. Med. 310 (1984): 361
158. Tompkins C. V., Brandenburg D., Jones R. H.,
Sonksen P. H.
Mechanism of action of insulin and insulin
analogues
Diabetologia 20 (1981): 94 - 101
159. Utiger R. D., Porker M. L., Daughadal W. H.
A radioimmunoassay for human growth hormone
J. Clin. Invest. 4 (1962): 254
160. Villeaume C., Beck B., Pointel J. P., Drouin P.,
Debry G.
Effects of Liver and Kidney on High Molecular
Weight Immunoreactive Insulin (HWIRI), Pro-
insulin (PI), and Insulin (I) in Man
Horm. Metab. Res. 13 (1981): 583

161. Walter H., Nippe A., Bachmann W., Mehnert H.
Vergleich zwischen intraperitonealer und intravenöser Gabe von biosynthetischem humanem Proinsulin und Insulin bei Typ I Diabetikern
Akt. Endokr. Stoffw. 6 (1985): 113
162. v. Werder K.
Wachstumshormone und Prolaktin-Sekretion des Menschen
Urban und Schwarzenberg München Berlin Heidelberg 1975
163. Wetzel R., Kleid D. G., Crea R. et al.
Expression in Escherichia coli of a chemically synthesized gene for a "mini-C" analog of human proinsulin
Gene 16 (1981): 63 - 71
164. WHO-Expert Committee on Diabetes Mellitus
Second Report
WHO Technical Report Series No. 646,
Genf, World Health Organization 1980
165. Wieland O. H.
Zur Pathogenese diabetischer Gefäßkomplikationen: Mögliche Beteiligung der nichtenzymatischen Glykosilierung von Proteinen
Hämostaseologie 3 (1983): 92 - 96
166. Yalow R. S. und Berson S. H.
Immunoassay of endogenous plasma insulin in man
J. Clin. Invest. 39 (1960): 1157
167. Yalow R. S. und Berson S. H.
Big, Big Insulin
Metabolism Vol. 22 (1973): 703 - 713

168. Yu S. S. und Kitabchi A. E.

Biological activity of proinsulin and related
polypeptides in the fat tissue

J. Biol. Chem. 248 (1973): 3733 - 3761

169. Yue D. K., McLennan M. S., Turtle J. R.

Glycosylation of plasma protein and its
relation to glycosylated hemoglobin in
diabetics

Diabetes 29 (1980): 296 - 300

170. Zilker T. R.

Klinische Bedeutung der C-Peptid-Bestimmung
Habil. Schrift, Urban und Schwarzenberg
München Wien Baltimore 1980

7. ANHANG

M B G (mg/dl)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	125.0 3.3 1.9	194.7 88.1 50.9	148.0 9.8 6.9	122.8 15.5 9.0
PAT.EK	146.1 40.7 23.5	148.3 19.2 11.1	138.0 27.9 16.1	191.9 59.6 34.4
PAT.WZ	155.1 23.0 13.3	97.4 10.2 5.9	140.2 35.6 20.5	128.0 15.0 8.7
PAT.ST	127.7 17.9 10.3	125.2 20.1 11.6	157.4 30.2 17.4	199.3 27.4 15.8
PAT.AB	160.5 29.9 17.3	163.7 24.7 14.3	192.4 4.2 3.0	162.4 26.3 15.2
PAT.UZ	156.3 32.2 18.6	143.4 27.7 16.0	143.2 18.6 10.8	123.0 17.0 9.8
PAT.MB	143.5 48.4 28.0	127.2 41.8 24.1	140.8 19.8 11.4	104.2 6.6 3.8
PAT.HB	120.9 9.7 5.6	124.1 7.6 4.4	118.1 12.6 7.2	123.3 12.7 7.4
PAT.NM	155.1 35.4 20.4	127.5 20.9 12.1	146.9 16.3 9.4	138.1 35.1 20.3
PAT.KD	134.0 19.3 11.1	122.6 6.7 3.8	136.2 8.6 5.0	149.7 33.7 19.4

Tab.:34 Mittlere tägliche Blutglucosewerte pro Patient in den vier Phasen der Studie (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

MAGE (mg/dl)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	36.0 23.5 13.6	129.7 53.2 30.7	125.0 67.9 48.0	53.7 23.2 13.4
PAT.EK	102.3 7.1 4.1	162.0 83.2 48.0	138.7 4.0 2.3	186.3 121.8 70.3
PAT.WZ	99.3 16.2 9.3	88.7 59.5 34.4	68.3 26.6 15.3	66.3 27.8 16.1
PAT.ST	100.3 30.2 17.4	107.3 51.8 29.9	123.3 49.4 28.5	163.0 49.5 28.6
PAT.AB	123.0 49.0 28.3	134.7 78.2 45.2	194.5 29.0 20.5	114.3 38.7 22.3
PAT.UZ	67.3 22.5 13.0	86.3 31.8 18.3	86.7 16.1 9.3	76.0 24.1 13.9
PAT.MB	111.0 41.9 24.2	110.0 33.4 19.3	75.7 7.5 4.3	93.3 33.5 19.3
PAT.HB	69.7 48.0 27.7	65.0 16.5 9.5	53.0 7.9 4.6	50.3 19.7 11.4
PAT.NM	118.7 18.5 10.7	99.0 15.1 8.7	122.7 72.0 41.6	64.7 24.8 14.3
PAT.KD	127.0 42.6 24.6	88.7 36.5 21.1	100.3 65.5 37.8	113.7 43.1 24.9

Tab.:35 Mittlere tägliche MAGE - Werte pro Patient in den verschiedenen Studienphasen (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHI BR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	30.0 0.0 0.0	26.1 0.9 0.5	28.1 0.0 0.0	-
PAT.EK	15.7 1.8 1.1	12.9 0.1 0.1	13.9 0.0 0.0	-
PAT.WZ	21.2 3.0 1.7	16.5 2.6 1.5	16.7 0.7 0.4	22.4 0.3 0.2
PAT.ST	19.9 2.1 1.2	13.9 0.0 0.0	19.1 0.8 0.5	17.9 0.2 0.1
PAT.AB	19.9 0.0 0.0	17.3 0.6 0.4	20.8 1.9 1.1	21.6 1.5 0.9
PAT.UZ	18.7 1.1 0.6	15.3 1.2 0.7	16.1 0.0 0.0	17.5 0.0 0.0
PAT.MB	16.7 1.4 0.8	12.9 0.8 0.5	13.9 0.7 0.4	15.1 0.0 0.0
PAT.HB	7.9 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	7.0 0.0 0.0	7.9 0.0 0.0
PAT.NM	19.1 2.6 1.5	17.1 1.0 0.6	17.0 1.7 1.0	17.5 0.2 0.1
PAT.KD	13.3 1.1 0.6	8.7 1.3 0.8	9.8 1.2 0.7	11.7 0.6 0.3

Tab.:36 Mittlere tägliche Dosismenge an s.c. applizierter BHI-Basalrate pro Patient in den jeweiligen Phasen der Studie (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHI ZR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	29.0 1.7 1.0	30.4 4.2 2.4	28.2 0.0 0.0	-
PAT.EK	13.3 3.5 2.0	17.9 0.5 0.3	21.7 1.8 1.0	-
PAT.WZ	25.5 2.2 1.3	18.4 1.6 0.9	22.5 3.1 1.8	26.0 1.0 0.6
PAT.ST	27.7 3.1 1.8	27.5 0.9 0.5	33.9 1.9 1.1	34.0 2.0 1.2
PAT.AB	35.0 2.0 1.2	28.5 2.0 1.2	38.1 4.7 2.7	29.3 3.1 1.8
PAT.UZ	27.8 1.8 1.0	24.3 1.2 0.7	29.7 0.9 0.5	28.3 1.2 0.7
PAT.MB	23.7 2.5 1.5	22.9 3.0 1.8	25.5 3.8 2.2	22.3 0.6 0.3
PAT.HB	7.0 1.0 0.6	8.3 1.2 0.7	12.6 0.9 0.5	9.3 1.5 0.9
PAT.NM	23.0 1.7 1.0	15.5 1.9 1.1	19.5 3.2 1.8	23.3 2.3 1.3
PAT.KD	19.3 3.2 1.9	14.9 1.9 1.1	19.5 1.4 0.8	22.0 3.5 2.0

Tab.:37 Mittlere tägliche Dosismenge an s.c. infundierten BHI-Zusatzraten pro Patient in den vier einzelnen Phasen der Studie (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

ANZAHL BHI-ZR	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	5.7 0.6 0.3	6.7 0.6 0.3	6.0 0.0 0.0	-
PAT.EK	4.7 1.5 0.9	6.3 0.6 0.3	6.3 1.2 0.7	-
PAT.WZ	6.3 1.2 0.7	6.3 0.6 0.2	7.7 1.5 0.9	6.3 0.6 0.3
PAT.ST	6.3 1.2 0.7	6.7 0.6 0.3	7.0 1.0 0.6	6.3 1.2 0.7
PAT.AB	7.0 0.0 0.0	7.3 0.6 0.3	8.0 2.8 1.6	5.3 0.6 0.3
PAT.UZ	5.0 1.0 0.6	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	5.0 0.0 0.0
PAT.MB	6.0 1.7 1.0	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	5.0 1.0 0.6
PAT.HB	4.7 0.6 0.3	5.7 0.6 0.3	6.3 0.6 0.3	4.7 0.6 0.3
PAT.NM	5.7 1.2 0.7	4.7 1.2 0.7	5.7 1.2 0.7	4.7 1.2 0.7
PAT.KD	5.7 0.6 0.3	5.3 1.2 0.7	5.3 0.6 0.3	4.7 0.6 0.3

Tab.:38 Mittlere Anzahl an täglichen subkutan verabfolgten Zusatzraten (ZR) an BHI pro Patient und Phase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHI BR+ZR (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	59.0 1.7 1.0	56.8 4.6 2.6	56.3 0.0 0.0	-
PAT.EK	29.1 1.9 1.1	30.7 0.6 0.3	35.5 1.8 1.0	-
PAT.WZ	46.7 3.7 2.2	34.9 4.0 2.3	39.2 3.7 2.1	48.4 0.8 0.5
PAT.ST	47.6 1.2 0.7	41.4 0.9 0.5	53.0 1.2 0.7	51.9 2.0 1.2
PAT.AB	54.9 2.0 1.2	45.8 1.5 0.9	58.9 2.8 1.6	50.9 3.0 1.7
PAT.UZ	46.6 2.2 1.3	39.6 2.2 1.3	45.8 0.9 0.5	45.9 1.2 0.7
PAT.MB	40.4 3.0 1.7	35.8 3.8 2.2	39.4 3.9 2.3	37.5 0.6 0.3
PAT.HB	14.9 1.0 0.6	14.3 1.2 0.7	19.6 0.9 0.5	17.3 1.5 0.9
PAT.NM	42.1 2.0 1.2	32.6 2.7 1.6	36.5 3.5 2.0	40.8 2.5 1.5
PAT.KD	32.6 3.8 2.2	23.6 0.5 0.3	29.3 2.3 1.3	33.7 2.9 1.7

Tab.:39 Mittlere Dosismenge pro Tag an subkutan infundierten BHI- Basal- und Zusatzraten pro Patient und Studienphase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHPI	BASALRATE		ZUSATZRATE	
(I.E.)	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10
TAG	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9
PAT.WP	6.8 0.3 0.2	2.8 0.0 0.0	7.7 0.8 0.5	2.8 0.0 0.0
PAT.EK	3.2 0.1 0.0	1.6 0.0 0.0	4.5 0.1 0.1	2.4 0.2 0.1
PAT.WZ	4.2 0.7 0.4	1.9 0.1 0.0	4.6 0.4 0.2	2.5 0.3 0.2
PAT.ST	3.6 0.0 0.0	2.1 0.1 0.0	6.9 0.2 0.1	3.8 0.2 0.1
PAT.AB	4.2 0.1 0.1	1.6 0.8 0.4	7.1 0.5 0.3	3.1 1.3 0.8
PAT.UZ	3.8 0.2 0.1	1.8 0.0 0.0	6.1 0.3 0.2	3.3 0.1 0.1
PAT.MB	3.3 0.2 0.1	1.5 0.1 0.0	5.7 0.8 0.4	2.8 0.4 0.2
PAT.HB	1.7 0.0 0.0	0.8 0.0 0.0	2.1 0.3 0.2	1.4 0.1 0.1
PAT.NM	4.2 0.2 0.1	1.9 0.2 0.1	3.9 0.5 0.3	2.2 0.4 0.2
PAT.KD	2.1 0.2 0.1	1.1 0.1 0.1	3.7 0.5 0.6	2.2 0.2 0.1

Tab.:40a, b

Mittlere tägliche Dosismenge an s.c. applizierten BHPI- Basal- und Zusatzraten pro Patient und Phase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHPI	ANZAHL ZR		B R + Z R (I.E.)	
PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10
TAG	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9
PAT.WP	6.7 0.6 0.3	6.0 0.0 0.0	14.4 0.9 0.5	5.6 0.0 0.0
PAT.EK	6.3 0.6 0.3	6.3 1.2 0.7	7.6 0.1 0.1	4.0 0.2 0.1
PAT.WZ	6.3 0.6 0.2	7.7 1.5 0.9	8.8 1.0 0.6	4.4 0.4 0.2
PAT.ST	6.7 0.6 0.3	7.0 1.0 0.6	10.5 0.2 0.1	5.9 0.1 0.1
PAT.AB	7.3 0.6 0.3	7.0 4.2 3.0	11.4 0.4 0.2	4.8 2.1 1.2
PAT.UZ	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	9.9 0.5 0.3	5.1 0.1 0.1
PAT.MB	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	9.1 1.0 0.6	4.4 0.4 0.3
PAT.HB	5.7 0.6 0.3	6.3 0.6 0.3	3.8 0.3 0.2	2.2 0.1 0.1
PAT.NM	4.7 1.2 0.7	5.7 1.2 0.7	8.1 0.6 0.4	4.1 0.4 0.2
PAT.KD	5.3 1.2 0.7	5.3 0.6 0.3	5.9 0.2 0.1	3.3 0.3 0.1

Tab.:41a, b

Mittlere Anzahl an täglich s.c. applizierten BHPI-Zusatzraten und täglicher Dosismenge an BHPI- Basal- und Zusatzraten pro Patient und Phase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

BHI+BHPI (I.E.)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	59.0 1.7 1.0	71.2 5.5 3.2	61.9 0.0 0.0	-
PAT.EK	29.1 1.9 1.1	38.4 0.7 0.4	39.5 2.0 1.2	-
PAT.WZ	46.7 3.7 2.2	43.7 5.1 2.9	43.6 4.1 2.4	48.4 0.8 0.5
PAT.ST	47.6 1.2 0.7	51.9 1.2 0.7	58.9 1.3 0.8	51.9 2.0 1.2
PAT.AB	54.9 2.0 1.2	57.2 1.9 1.1	63.6 4.9 2.8	50.9 3.0 1.7
PAT.UZ	46.6 2.2 1.3	49.4 2.7 1.6	50.9 1.0 0.6	45.9 1.2 0.7
PAT.MB	40.4 3.0 1.7	44.9 4.8 2.8	43.8 4.3 2.5	37.5 0.6 0.3
PAT.HB	14.9 1.0 0.6	18.0 1.5 0.9	21.8 1.0 0.6	17.3 1.5 0.9
PAT.NM	42.1 2.0 1.2	40.6 3.3 1.9	40.6 3.8 2.2	40.8 2.5 1.5
PAT.KD	32.6 3.8 2.2	29.5 0.7 0.4	32.6 2.6 1.5	33.7 2.9 1.7

Tab.:42 Mittlere tägliche Gesamtmenge an s.c. appliziertem BHI (Prae- und Postphase) bzw. BHI plus BHPI (in den beiden Testphasen) in I.E. pro Patient und Phase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

SUMME KH (BE)	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	17.3 1.2 0.7	18.3 0.6 0.3	18.0 0.0 0.0	18.0 0.0 0.0
PAT.EK	10.3 3.2 1.9	8.7 1.2 0.7	10.5 1.8 1.0	9.3 0.6 0.3
PAT.WZ	20.0 0.0 0.0	20.7 1.2 0.7	20.0 0.0 0.0	20.0 0.0 0.0
PAT.ST	26.0 5.3 3.1	29.7 1.2 0.7	29.0 1.7 1.0	27.0 1.7 1.0
PAT.AB	19.7 4.0 2.3	22.7 1.2 0.7	20.0 0.0 0.0	22.5 1.3 0.8
PAT.UZ	25.7 1.2 0.7	25.7 1.2 0.7	25.2 0.3 0.2	25.5 0.5 0.3
PAT.MB	19.3 1.2 0.7	19.2 1.3 0.7	19.0 1.0 0.6	19.5 1.3 0.8
PAT.HB	25.0 0.0 0.0	25.0 0.0 0.0	25.0 0.0 0.0	25.0 0.0 0.0
PAT.NM	16.2 0.3 0.2	16.6 0.7 0.4	16.2 0.3 0.2	16.0 0.0 0.0
PAT.KD	18.0 1.0 0.6	17.3 0.6 0.3	17.0 0.0 0.0	17.3 0.6 0.3

Tab.:43 Mittlere tägliche Gesamtmenge an Kohlenhydraten (KH) in Broteinheiten (BE) pro Patient in den vier Phasen der Studie (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

ANZAHL MZ	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	5.7 0.6 0.3	6.3 0.6 0.3	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0
PAT.EK	7.3 1.5 0.9	5.6 1.2 0.7	7.3 0.6 0.3	5.7 0.6 0.3
PAT.WZ	6.0 0.0 0.0	6.7 1.2 0.7	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0
PAT.ST	5.7 1.5 0.9	7.3 0.6 0.3	6.3 0.6 0.3	5.7 0.6 0.3
PAT.AB	5.3 1.2 0.7	6.3 0.6 0.3	5.0 0.0 0.0	6.3 0.6 0.3
PAT.UZ	6.3 0.6 0.3	6.7 1.2 0.7	6.3 0.6 0.3	6.7 0.6 0.3
PAT.MB	6.7 0.6 0.3	7.0 1.0 0.6	7.0 1.0 0.6	6.7 0.6 0.3
PAT.HB	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0	6.0 0.0 0.0
PAT.NM	6.3 0.6 0.3	6.7 0.6 0.3	6.3 0.6 0.3	6.0 0.0 0.0
PAT.KD	7.3 1.2 0.7	6.3 0.6 0.3	6.0 0.0 0.0	6.3 0.6 0.3

Tab.:44 Mittlere Anzahl der täglichen Mahlzeiten (MZ) pro Patient und Phase (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

Menge an BHI bzw. BHI + BHPI pro 12 Gramm KH				
I.E. pro BE	PRAEPHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POST-PHASE
TAG	1 / 2 / 3	4 / 5 / 6	7 / 8 / 9	10/ 11/ 12
PAT.WP	3.4 0.1 0.1	3.9 0.4 0.2	3.4 0.0 0.0	-
PAT.EK	3.0 1.0 0.6	4.5 0.5 0.3	3.8 0.6 0.3	-
PAT.WZ	2.3 0.2 0.1	2.1 0.4 0.2	2.2 0.2 0.1	2.4 0.0 0.0
PAT.ST	1.9 0.4 0.2	1.6 0.1 0.1	2.0 0.2 0.1	1.9 0.1 0.1
PAT.AB	2.9 0.6 0.3	2.5 0.2 0.1	3.2 0.2 0.2	2.3 0.0 0.0
PAT.UZ	1.8 0.1 0.1	1.9 0.1 0.1	2.0 0.1 0.0	1.8 0.0 0.0
PAT.MB	2.1 0.2 0.1	2.4 0.4 0.2	2.3 0.1 0.1	1.9 0.1 0.1
PAT.HB	0.6 0.0 0.0	0.7 0.1 0.0	0.9 0.0 0.0	0.7 0.1 0.0
PAT.NM	2.6 0.1 0.1	2.5 0.3 0.2	2.5 0.2 0.1	2.6 0.2 0.1
PAT.KD	1.8 0.1 0.1	1.7 0.1 0.0	1.9 0.2 0.1	1.9 0.2 0.1

Tab.:45 Mittlere Gesamtmenge an applizierter Hormondosis an BHI bzw. BHI plus BHPI per 12 g Kohlenhydrate (KH) in Broteinheiten (BE) pro Patient; (n=3 Tage pro Phase, angegeben als MW, SD und SEM).

LABOR- PARAMETER	PRAE- PHASE	TESTPHASE 80/20	TESTPHASE 90/10	POSTPHASE	
				n. 1 Mon.	n. 3 Mon.
FREIES INSULIN	21.7 ± 4.7	61.7 ± 9.2	38.2 ± 4.9	12.8 ± 2.1	16.8 ± 3.8
GESAMT- INSULIN	100.0 ± 21.6	267.6 ± 65.4	200.7 ± 59.8	67.8 ± 10.6	61.13 ± 10.3
"PRO- INSULIN"	0.2 ± 0.1	8.5 ± 2.8	5.0 ± 1.8	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
GLUCAGON	84.8 ± 9.0	98.5 ± 8.3	93.5 ± 7.6	75.4 ± 4.8	90.6 ± 10.8
CORTISOL	28.0 ± 3.5	29.6 ± 3.7	26.5 ± 2.4	22.4 ± 3.0	25.7 ± 2.5
HGH	6.5 ± 4.1	2.1 ± 1.0	3.1 ± 1.5	5.9 ± 1.8	5.0 ± 2.1
PROLAKTIN	202.8 ± 47.0	271.4 ± 37.9	266.0 ± 31.9	178.3 ± 54.0	154.7 ± 35.6
BLUT- GLUCOSE	134.4 ± 17.9	115.4 ± 8.8	153.6 ± 23.0	136.8 ± 27.7	172.7 ± 21.8
KALIUM	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.1	4.5 ± 0.2	4.3 ± 0.2

Tab.:46 Nüchtern-Laborparameter der zehn Typ I Diabetiker vor Beginn und während der Studie, sowie zu den ambulanten Kontrollzeitpunkten ein und drei Monate nach Abschluß der stationären Studie mit BHI bzw. BHI plus BHPI (n=10; MW ± SEM; Einheiten: Freies und Serum-Gesamtinsulin in Mikro-Units pro Milliliter; "Proinsulin" in Nanogramm pro Milliliter; Glucagon in Picogramm pro Milliliter; Cortisol in Mikrogramm pro Milliliter; HGH in Nanogramm pro Milliliter; Prolaktin in Mikro-Units pro Milliliter; Blutglucose in Milligramm pro Deziliter und Kalium in Millimol pro Liter).

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. R. Landgraf möchte ich danken für die freundliche Überlassung des Themas, die wertvollen Ratschläge und die Korrektur der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. E. Buchborn und Herrn Priv. Doz. Dr. med. M. Wicklmayr danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Frau Dr. med. M.M.C. Landgraf-Leurs danke ich für die kritischen Vorschläge und die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau S. Kammerer für ihre stets konstruktive und tatkräftige Unterstützung sowie für die Durchführung des Hauptanteils der zahlreichen Laboranalysen im Diabetologie Labor.

Herrn Dr. med. A. Loy danke ich sehr für seine weiterführenden Ratschläge und die freundliche und hilfreiche praktische Unterstützung.

Dank sagen möchte ich Herrn Prof. Dr. med. O.-A. Müller und seinen Mitarbeiterinnen für die Cortisolanalysen, Herrn Prof. Dr. med. K. v. Werder und seinen Mitarbeiterinnen für die Prolaktin- und HGH-Bestimmungen, sowie Herrn Prof. Dr. med. K. Horn und seinen Mitarbeiterinnen des Zentrallabors für die Bestimmung der Laborparameter.

Mein besonderer Dank gilt insbesondere Herrn Dr. med. A. König und Frau Beranek in der EDV für die zeitaufwendigen Berechnungen und die statistische Auswertung der zahlreichen Daten.

Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. med. R. Pickardt für die freundliche zur Verfügungstellung des Olivetti Computers und des HP Laser Jets und Herrn J. Kuthe für die kreativen Ratschläge bez. eines Teils der graphischen Ausarbeitung.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich Herrn K. L. Hörmann für die umfangreiche konstruktive Beratung im Bereich der EDV, die Erstellung zahlreicher Graphiken, die weiteren statistischen Berechnungen, sowie für die zeitweise Überlassung von Hardware und spezieller Computerprogramme.

Ferner möchte ich herzlich allen Mitarbeitern der Innenstadt klinik und allen sonstigen Mitarbeitern danken, die durch ihr Entgegenkommen und ihre Hilfsbereitschaft zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

CURRICULUM VITAE

7. Oktober 1957: Rudolf Hörmann, als zweiter Sohn des Assistenzarztes Dr. med. Sven-Erik Hörmann und seiner Ehefrau, der kaufm. prakt. Arzthelferin Helene, geb. Hupfer, in München geboren

Staatsangehörigkeit: deutsche

Familienstand: ledig

1964 bis 1969: Besuch der Volksschule am Winthirplatz in München

1969 bis 1978: Besuch des Nymphenburger Gymnasiums in München

29. Juni 1978: Erwerb der Allg. Hochschulreife

1978 bis 1979: Ableistung des Grundwehrdienstes gemäß Artikel 12 a des Grundgesetzes; Entlassung als Obergefreiter

1979: zweimonatige Tätigkeit als Praktikant im krankenpflegerischen Dienst auf der urologischen Privatstation im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder in München

1979 bis 1980: elfmonatige Tätigkeit in der Krankenpflege im Stationsdienst auf der Abteilung für Urologie im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder in München

September 1980: Immatrikulation an der Ludwig-Maximilians-Universität München für Humanmedizin

Sommersemester 1987: Absolvierung des Dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung und Erteilung der Approbation als Arzt am 15. Juni 1987 in München

